

CHRONISCHER STRAHLENSCHADEN
AM ENDDARM DER RATTE:
BEEINFLUSSUNG DURCH
THERAPIEMASSNAHMEN UND
DOSISFRAKTIONIERUNG

Andreas Spiethoff

Duss.
München
1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Strahlenbiologischen Institut
der Universität München

Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. G. Riethmüller
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K.-R. Trott
vorgelegt über: Prof. Dr. K. Tempel
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. W. Leidl

CHRONISCHER STRAHLENSCHADEN AM ENDDARM DER RATTE:
BEEINFLUSSUNG DURCH THERAPIEMASSNAHMEN UND DOSISFRAKTIONIERUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Andreas Spiethoff
aus München

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. K. Tempel

Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr.habil. H. Petry

Tag der Promotion: 22. Februar 1985

Meinen Eltern

1.	Einleitung	1
2.	Die Eltern	2
3.	Die Kindheit	3
4.	Die Jugend	4
5.	Die Ehe	5
6.	Die Kinder	6
7.	Die Eltern	7
8.	Die Kindheit	8
9.	Die Jugend	9
10.	Die Ehe	10
11.	Die Kinder	11
12.	Die Eltern	12
13.	Die Kindheit	13
14.	Die Jugend	14
15.	Die Ehe	15
16.	Die Kinder	16
17.	Die Eltern	17
18.	Die Kindheit	18
19.	Die Jugend	19
20.	Die Ehe	20
21.	Die Kinder	21
22.	Die Eltern	22
23.	Die Kindheit	23
24.	Die Jugend	24
25.	Die Ehe	25
26.	Die Kinder	26
27.	Die Eltern	27
28.	Die Kindheit	28
29.	Die Jugend	29
30.	Die Ehe	30
31.	Die Kinder	31
32.	Die Eltern	32
33.	Die Kindheit	33
34.	Die Jugend	34
35.	Die Ehe	35
36.	Die Kinder	36
37.	Die Eltern	37
38.	Die Kindheit	38
39.	Die Jugend	39
40.	Die Ehe	40
41.	Die Kinder	41
42.	Die Eltern	42
43.	Die Kindheit	43
44.	Die Jugend	44
45.	Die Ehe	45
46.	Die Kinder	46
47.	Die Eltern	47
48.	Die Kindheit	48
49.	Die Jugend	49
50.	Die Ehe	50
51.	Die Kinder	51
52.	Die Eltern	52
53.	Die Kindheit	53
54.	Die Jugend	54
55.	Die Ehe	55
56.	Die Kinder	56
57.	Die Eltern	57
58.	Die Kindheit	58
59.	Die Jugend	59
60.	Die Ehe	60
61.	Die Kinder	61
62.	Die Eltern	62
63.	Die Kindheit	63
64.	Die Jugend	64
65.	Die Ehe	65
66.	Die Kinder	66
67.	Die Eltern	67
68.	Die Kindheit	68
69.	Die Jugend	69
70.	Die Ehe	70
71.	Die Kinder	71
72.	Die Eltern	72
73.	Die Kindheit	73
74.	Die Jugend	74
75.	Die Ehe	75
76.	Die Kinder	76
77.	Die Eltern	77
78.	Die Kindheit	78
79.	Die Jugend	79
80.	Die Ehe	80
81.	Die Kinder	81
82.	Die Eltern	82
83.	Die Kindheit	83
84.	Die Jugend	84
85.	Die Ehe	85
86.	Die Kinder	86
87.	Die Eltern	87
88.	Die Kindheit	88
89.	Die Jugend	89
90.	Die Ehe	90
91.	Die Kinder	91
92.	Die Eltern	92
93.	Die Kindheit	93
94.	Die Jugend	94
95.	Die Ehe	95
96.	Die Kinder	96
97.	Die Eltern	97
98.	Die Kindheit	98
99.	Die Jugend	99
100.	Die Ehe	100

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	7
2.1. Versuchstiere	7
2.2. Bestrahlungstechnik	7
2.2.1. Strahlenquelle	7
2.2.2. Dosimetrie	7
2.2.3. Positionierung	8
2.2.4. Wahl des Bestrahlungsfeldes	9
2.2.5. Vorbereitung zur Bestrahlung	11
2.2.6. Positionierungskontrolle	11
2.3. Sektionstechnik	12
2.4. Histologische Methode	13
2.5. Statistik	13
2.5.1. Das Grenzproduktverfahren zur Berücksichtigung konkurrierender Ereignisse	13
2.5.2. Darstellung der Latenzzeiten	16
3. ERGEBNISSE	17
3.1. Klinik der Strahlenreaktion	17
3.2. Sektionsbefund	17
3.3. Sektionsbild	18
3.4. Allgemeiner histopathologischer Befund	19
3.5. Therapeutische Maßnahmen	20
3.5.1. Allgemeines und Vorüberlegungen	20
3.5.2. Medikamentöse Beeinflussung	22
3.5.2.1. Versuch (I)	22
3.5.2.1.1. Ausführung	24
3.5.2.1.2. Ergebnis	24
3.5.2.2. Versuch (II)	30
3.5.2.2.1. Ausführung	30
3.5.2.2.2. Ergebnis	31
3.5.3. Diätetische Beeinflussung	39

	Seite
3.5.3.1. Allgemeines und Vorversuch	39
3.5.3.2. Pilotexperiment	41
3.5.3.3. Versuchsausweitung	44
3.5.3.3.1. Durchführung	44
3.5.3.3.2. Ergebnis	45
3.5.3.3.3. Pathohistologische Befunde	51
3.5.3.4. Histologische Serie	54
3.5.3.4.1. Befund während der Diät	54
3.5.3.4.2. Befund nach Wiederaufnahme der Normalkost	55
3.5.3.4.3. Bestimmung der Kapillardichte innerhalb der Lamina propria	60
3.5.3.5. Diätbeginn bei einsetzender Ileussymp- tomatik	62
3.5.3.5.1. Ergebnis	63
3.5.3.5.2. Histologie	64
3.6. Fraktionierte Bestrahlung	67
3.6.1. Überblick	67
3.6.2. Ergebnisse mit Kommentar	68
3.6.3. Untersuchung der Strahlenreaktion eines vorbestrahlten Darmabschnitts	96
4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	97
4.1. Therapeutische Maßnahmen	97
4.2. Fraktionierte Bestrahlung	106
4.2.1. Die "4 R" der Strahlentherapie	106
4.2.2. Die Problematik von Isoeffektkurven und daraus abgeleiteten Formeln	114
4.2.2.1. Einführung	114
4.2.2.2. Das NSD-Konzept	115
4.2.2.3. Der linearquadratische Formalismus	119
5. ZUSAMMENFASSUNG	129
SUMMARY	132
6. LITERATURVERZEICHNIS	135

1. EINLEITUNG

Die diagnostische und therapeutische Anwendung von ionisierenden Strahlen am Menschen wurde seit jeher durch das Risiko schädlicher Nebenwirkungen beeinträchtigt. Bei der klinischen Strahlentherapie von malignen Tumoren stand der Erfordernis von ausreichend hohen Dosen zur sicheren Zerstörung der Tumorzellen immer das Problem der Mitschädigung von gesundem Gewebe in der Nachbarschaft des Tumors gegenüber. Ständige Weiterentwicklungen der Bestrahlungs- und Dosimetrietechnik (z.B. Verwendung ultraharter Röntgenstrahlen bei der Tiefentherapie, interstitielle Bestrahlung mit Isotopen, Bewegungsbestrahlung mit Pendelgeräten, in vivo-Dosimetrie mit Miniatursonden) trugen zwar erheblich zur Schonung von Normalgeweben, insbesondere der Haut bei, doch verhinderte die parallel zur technischen Entwicklung laufende Ausweitung der strahlentherapeutischen Indikationen eine wirkliche Ausschaltung radiogener Komplikationen. Durch die modernen Techniken werden außerdem vermehrt tiefer gelegene Gewebe und Organe in Mitleidenschaft gezogen.

Die strahlenbedingten Veränderungen im gesunden Gewebe können harmlos und vorübergehend sein, aber auch irreversible und lebensbedrohliche Folgeerscheinungen nach sich ziehen. Sie können den therapeutischen Erfolg einer Tumorheilung durchaus in Frage stellen. Nach dem Manifestationszeitpunkt der klinischen Symptomatik bietet sich eine Unterscheidung in Früh- und Spätreaktionen an. Die während und im Anschluß an die Bestrahlung auftretenden Frühreaktionen resultieren aus der Schädigung rasch proliferierender Gewebe (z.B. Haut- und Darmepithel, Knochenmark). Es sind in der Regel Ereignisse von kurzem Verlauf, weil die hohe Teilungsrate dieser Gewebe schnelle Erholungsvorgänge erlaubt. Den Spätreaktionen, die sich Monate bis Jahre nach der Behandlung

bemerkbar machen, liegen pathologische Veränderungen der sich langsam reproduzierenden Gewebe (z.B. kleines Gefäßsystem, Bindegewebe) zu Grunde. Wegen der Unbestimmbarkeit des Manifestationszeitpunkts, der oft erfolglosen Therapiemaßnahmen und der Tendenz zur fortschreitenden Verschlimmerung stellen diese späten Ereignisse eines der großen, noch längst nicht bewältigten Probleme der klinischen Strahlentherapie dar.

Unter den verschiedenen Normalgeweben nimmt der Darm hinsichtlich Häufigkeit und Schweregrad strahlentherapeutischer Komplikationen eine Sonderstellung ein. Intestinale Strahlenschäden wurden bereits im ersten Jahrzehnt klinischer Strahlentherapie dokumentiert. Seit den dreißiger Jahren dieses Jahrhunderts wurde eine Fülle von klinischen Studien zu diesem Thema angestellt. Seit dieser Zeit ist man sich auch des besonderen Schweregrades von Strahlenspätschäden am Darm bewußt (TISON, 1934; BACON, 1937; TODD, 1938). Anhand klinischer Daten setzten RUBIN und CASARETTE (1972) für den menschlichen Magen-Darm-Trakt folgende Toleranzdosen (TD 50/5 d.h. in 50% der Fälle innerhalb von 5 Jahren) bezüglich Spätschäden fest: Magen 50 Gy, Dün- und Dickdarm 65 Gy, Rectum 80 Gy. (Es handelt sich um Gesamtdosen fraktionierter Bestrahlung). Trotz dieser allwärts abnehmenden Strahlensensibilität treten strahlentherapeutische Nebenwirkungen vor allem im distalen Darmbereich (Colon descendens, Colon sigmoideum, Rectum) auf. Das liegt einmal, abgesehen von den Tumoren des Oberbauchs, die derzeit keine Indikation zur Strahlentherapie darstellen, an der überwiegenden Häufigkeit von gynäkologischen Tumoren (bes. Kollumkarzinom) im Vergleich zu sonstigen Tumoren des Bauch- und Beckenbereichs, zum anderen kommen am Dickdarm wegen der relativen Unbeweglichkeit (vor allem am Rectosigmoid) leicht hohe Dosen zustande, was am Dünndarm

durch ständige Peristaltik (mit Wechsel der exponierten Darmabschnitte) bis zu einem gewissen Grad verhindert wird. Besonders kraß wirkt sich dieses Phänomen bei der intrakavitären Bestrahlung des Kollumkarzinoms aus, wo die benachbarte Vorderwand des wenig beweglichen Rectums ständig maximale Strahlendosen erhält. Die Angaben zur Häufigkeit schwerer intestinaler Strahlenschäden in der Literatur schwanken zwischen 0,5 und 20% (Zusammenstellung von BAER et al., 1981). Bei fortgeschrittenen Spätschäden kann eine chirurgische Intervention meistens nicht vermieden werden. Klinische Studien von MORGENSTERN (1977) und BAER (1981) zeigten, daß Ileus- und Subileuszustände die häufigsten Indikationen zur Operation darstellten. Weitere Operationsindikationen waren in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit: Fisteln, Ulzerationen, Perforationen und Blutungen. Postoperative Komplikationen führen zu hohen Sterberaten zwischen 10 und 55% (MORGENSTERN, 1977; LENNER, 1980; DIRKSEN, 1977; BAER, 1981). Die Lebensqualität operierter Patienten kann nach Maßnahmen wie z.B. dem Anlegen eines anus praeter wesentlich beeinträchtigt sein.

Trotz jahrzehntelanger klinischer Erfahrung mit chronischen Strahlenschäden am Darm und einer Vielzahl ungelöster, drängender Fragen wurden erstaunlich wenige tierexperimentelle Untersuchungen zu diesem Proplemkomplex angestellt. Bei tierexperimentellen Arbeiten am Darm konzentrierte sich das Interesse meist auf die Strahlenreaktion des Darmepithels. Das hängt einmal mit der wichtigen Rolle zusammen, die das Dünndarmepithel beim akuten Strahlensyndrom nach Ganzkörperbestrahlung (Atombombeneinsatz, Strahlenunfälle) einnimmt, aber auch damit, daß das Darmepithel zu den typischen Mause rgeweben des Körpers gehört. So bezeichnete Gewebe kompensieren den ständigen Verlust ausgereifter Zellen durch unablässige Proliferation von Stammzellen. Das Dünndarmepithel weist von allen Mause rgeweben die höchste Zellumsatz-

rate auf. Wegen der dadurch bedingten hohen Strahlensensibilität, die bereits ab 0,1 Gy Ganzkörperbestrahlung histologisch feststellbar ist, eignet sich dieses Gewebe vorzüglich zur Untersuchung strahlenbiologischer Fragen, wie Fraktionierungs- und Dosisleistungseffekte, Vergleich verschiedener Strahlenarten und dergleichen mehr. Dazu wurde eine Reihe von Methoden entwickelt. Zu den bekanntesten gehören die Verfahren von WITHERS et al. (1968, 1970, 1974) zur quantitativen Bestimmung von überlebenden Epithelstammzellen.

Akute Strahlenreaktionen des Darms werden weitgehend vom Ausmaß der Epithelschädigung bestimmt. Hinter chronischen Reaktionen steht immer die Schadenskombination sämtlicher Gewebsanteile des Darms, also auch der Gefäße, des Bindegewebes, der Muskulatur, der Nerven und des serösen Überzugs. Eine genaue Kenntnis der Strahlenreaktion des Darmepithels kann deshalb für die Erforschung von Langzeitfolgen nicht mehr als ein Teilbeitrag sein. Von den wenigen tierexperimentellen Untersuchungen über chronische Strahlenwirkungen am Darm sei auf die Arbeiten von GERACI et al. (1974) und HAUER JENSEN (1983) am Rattendünndarm und von BLACK et al. (1980) und TERRY et al. (1983) am Ratten- bzw. Mäusedickdarm hingewiesen. GERACI und HAUER JENSEN bestrahlten nach außen verlagerte Dünndarmsegmente. Ihre gewonnenen Dosiseffektkurven zeigen einen steilen Verlauf mit einer mittleren letalen Dosis (meist Stenose als Todesursache) von 22 Gy. BLACK et al. entwickelten ein Punktesystem zur Quantifizierung histologischer Veränderungen nach Bestrahlung und beobachteten bei der Einzeitbestrahlung eine dosisabhängige Zunahme der pathologischen Veränderungen. TERRY et al. bestrahlten den Mäuseenddarm im gesamten Beckenbereich mit Röntgen- bzw. Neutronenstrahlen und legten ihren Untersuchungen auch funktionelle Endpunkte zu Grunde (Gewichtsveränderungen, Verformung der Kotballen). Bei der Röntgenbe-

strahlung erhielten sie für den Zeitraum von sechs Monaten eine LD 50 von 26 Gy. Dabei war zumeist eine Rectumstenose die Todesursache.

Seit mehr als sechs Jahren werden von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe "Experimentelle Tumorthherapie" der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, und des Strahlenbiologischen Instituts der Universität München die chronischen Strahlenwirkungen auf den Enddarm an einem Tiermodell untersucht. Dabei wurde von HUBMANN (1981) eine Methode der externen Bestrahlung eines definierten Enddarmabschnitts (Übergang des Colon descendens in das Rectum) der Ratte entwickelt. Für HUBMANN stellte sich der nach 30 bis 200 Tagen auftretende Darmverschluß als geeigneter Endpunkt zur Quantifizierung chronischer Strahlenschäden dar. KISZEL (1983) setzte die Studien mit diesem Modell fort. Anhand einer histologischen Untersuchungsreihe beschrieb er die Pathogenese des Darmverschlusses, wobei er der ulkusbedingten Schädigung der Muscularis propria eine Hauptrolle zuwies. Mit unterschiedlich fraktionierter Bestrahlung untersuchte er den Zeitfaktor und stellte dabei eine große Erholungskapazität des Enddarms fest. Zusätzlich entwickelte er eine Methode der intrakavitären Bestrahlung des Colon descendens der Ratte. Das wichtigste Ergebnis der mit dieser Bestrahlungstechnik durchgeführten Versuche war die Beobachtung, daß die Toleranzdosis des Darms sehr stark von der Länge des Bestrahlungsfeldes abhängig ist.

Im Rahmen dieses Forschungsprogramms sollte die vorliegende Arbeit die Beeinflussbarkeit des chronischen Strahlenschadens durch Therapiemaßnahmen und Dosisfraktionierung untersuchen, zumal die Anstrengungen zur Verhinderung bzw. Behandlung von intestinalen Strahlenschäden bisher nie durchschlagende Erfolge aufweisen konnten (MORGENSTERN, 1977). Die Anwendung unterschiedlicher Behandlungsmethoden im Rahmen der hier

dargestellten Arbeit erfolgte jedoch auch mit dem Zweck, den Versuchsergebnissen neue Aufschlüsse über die komplizierte Pathogenese von Strahlenspätfolgen zu entnehmen. Dazu sollten auch weitergeführte Fraktionierungsexperimente ihren Beitrag leisten, neben ihrer Hauptzielsetzung, das Verständnis der intestinalen Erholungsvorgänge und ihrer optimalen Berücksichtigung durch geeignete Dosisfraktionierung zu vertiefen.

Es wurde ausnahmslos die von HUBMANN (1981) entwickelte Methode der externen Bestrahlung verwendet.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. VERSUCHSTIERE

Die Bestrahlungen wurden an weiblichen Wistarratten im Alter von 4 Monaten und einem Gewicht von 200 - 250 Gramm durchgeführt. Die Tiere wurden zu zweit bzw. zu fünft im Käfig gehalten und mit einem pelletierten Trockenfutter (Altromin^R) und Wasser ad libitum ernährt.¹⁾

2.2. BESTRAHLUNGSTECHNIK

2.2.1. STRAHLENQUELLE

Als Bestrahlungsgerät stand eine Müller-MG 300-Röntgeneinheit zur Verfügung. Die Bestrahlung der Ratten erfolgte bei 300 kV Spannung und einem Röhrenstrom von 9 mA unter der Verwendung eines 0,9 mm Cu, 1,0 mm Al-Filters. Der Fokushautabstand betrug 22 cm. Für einen Teil der Bestrahlungsserien wurde ein neues Gerät verwendet (Isovolt 420 D, Firma Seifert). Dabei wurden Spannung, Stromstärke, Filterung und Fokushautabstand beibehalten. Es änderte sich lediglich die Dosisleistung am Zielorgan von 1,9 Gy/min bei der alten auf 2,7 Gy/min bei der neuen Anlage. Dadurch bedingte Unterschiede der Strahlenreaktionen wurden nicht erwartet und auch nicht festgestellt.

2.2.2. DOSIMETRIE

Die Strahlendosis wurde mit einem elektronischen Dosimeter bestehend aus Grundgerät, Meßkopf und Ionisationskammer gemessen (Universaldosimeter, Firma PTW, Freiburg). Dabei befand sich im Tubus der Röntgenröhre die Ionisa-

¹⁾ Im Rahmen der Therapieversuche kam eine ballaststofffreie Formeldiät zur Anwendung, ferner wurden dabei verschiedene Medikamente eingesetzt. Diät und therapeutische Mittel werden im Kapitel 3.5. ausführlich beschrieben.

tionskammer, deren Meßort vom Zentralstrahl getroffen wurde. Das Dosimetergrundgerät enthält einen Voreinstellzähler und ein Teildosisinstrument, dessen Zeiger in der Zeit zwischen zwei Sprüngen von 0 bis zum Skalenende wandert. Die Sprungzeiten wurden vor jeder Bestrahlung mit einer Strontiumkontrollvorrichtung kalibriert. Ein Sprung zeigt nach Kalibrierung 5 Röntgen an. Wegen der stets gleichbleibenden Abstandsverhältnisse ist die im Tubus gemessene Dosis direkt proportional zur Dosis in der Darmwand. Der Proportionalitätsfaktor wurde in der Weise bestimmt, daß in den Darm einer in normaler Bestrahlungsposition befindlichen Ratte der Schlauch einer zweiten Ionisationskammer eingeführt wurde, die mit einem zweiten Grundgerät verbunden war. Während der Bestrahlung wich die von beiden Geräten gemessene Sprungzahl wegen der unterschiedlichen Entfernung der beiden Ionisationskammern zum Fokus voneinander ab, woraus sich schließlich der Proportionalitätsfaktor ergab. Die am Darm gewünschte Dosis wurde mit diesem Faktor multipliziert und durch 5 dividiert (ein Sprung zeigt 5 Röntgen an). Die so ermittelte Sprungzahl wurde in den Voreinstellzähler eingegeben.

2.2.3. POSITIONIERUNG

Zur Positionierung und Abschirmung der Ratten während der Bestrahlung wurde eine senkrecht gestellte, durch Spanholz (20 mm) stabilisierte Bleiplatte (365 x 245 x 3 mm) verwendet. In der Mitte des oberen Drittels dieser Platte war eine rechteckige Öffnung (22 x 10 mm) ausgespart, durch die ein Kollimator an der Rückseite den horizontalen Zentralstrahl leitete. Eine Klemmvorrichtung am oberen Ende der Platte fixierte den Schwanz der narkotisierten Ratte. Vom eigenen Gewicht stabilisiert, hing das Tier mit dem Kopf nach unten, wobei sein Rücken der Platte und ihrer Öffnung zugekehrt war. In dieser senkrechten, kopfabwärts gerichteten

ten Position verlagert sich das übrige Darmkonvolut nach unten und damit aus dem Bestrahlungsfeld.

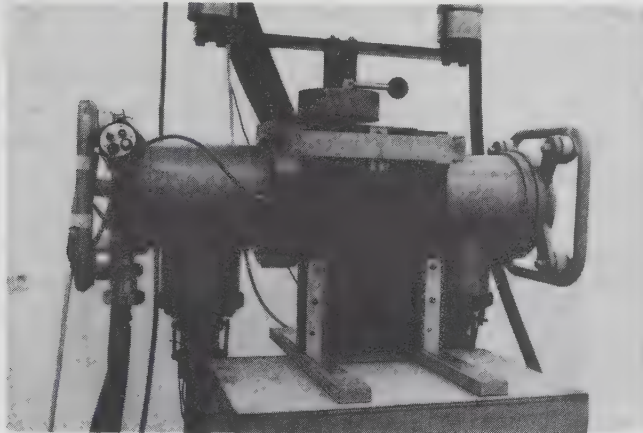


Abb. 2.2-1: Position der als Bestrahlungsbett dienenden Bleiplatte vor der Röntgenröhre.

2.2.4. WAHL DES BESTRAHLUNGSFELDES

Die Wahl des Bestrahlungsfeldes war dadurch gekennzeichnet, daß die Bestrahlung eines hinreichend langen Darmabschnitts von besonderer klinischer Bedeutung gewünscht war, unerwünscht dagegen das Auftreten strahlenbedingter Nebenerscheinungen der anderen kritischen Organe. Das von HUBMANN (1981) festgelegte Feld (Länge, 25 mm vom Anus ab gerechnet: 24 mm; Breite: 10 mm) wurde jedoch dieser Forderung nur teilweise gerecht. Der bestrahlte Darmabschnitt, Übergang

Colon descendes auf Rectum, entspricht dem menschlichen Rectosigmoid, einem strahlentherapeutisch besonders kritischen Segment. Doch liegen noch weitere Organe im Bestrahlungsfeld, was nicht zu vermeiden war. Es handelt sich um die gesamte Blase, das distale Drittel der Ureteren (siehe retrogrades Pyelogramm der Abb.2.2-2) einschließlich ihrer Ostien, den Uteruskörper mit den Anfangsteilen der Hörner und die Cauda Equina des Rückenmarks. Als ergebnisstörend erwiesen sich davon allerdings nur die Veränderungen an der Blase und den Ureteren (siehe Kap.2.5.1.).



Abb. 2.2-2: Retrogrades Pyelogramm zur Darstellung der Blase und der Endabschnitte der Ureteren im Bestrahlungsfeld (umrahmt). Der eingeführte Metallstift gibt die Lage des Enddarms an.

2.2.5. VORBEREITUNG ZUR BESTRAHLUNG

Eine Stunde vor der Bestrahlung erhielt jede Ratte einen Mikroklisteinlauf im kurzen Ätherrausch, um den Enddarm zu entleeren. Für die Bestrahlung wurden die Tiere mit Ketanest^R (50 mg/ml) in einer Dosierung von 120 mg/kg Körpergewicht narkotisiert. Ketanest, intraperitoneal injiziert, führt bei der Ratte nach wenigen Minuten zu einer ausreichend tiefen Narkose von mindestens halbstündiger Dauer. Das Mittel ist gut verträglich. Für ein Fraktionierungsexperiment erhielten 43 Tiere 4 Wochen lang täglich eine Ketanestnarkose, was zum narkosebedingten Verlust von nur 3 Tieren führte. (Hersteller von Ketanest^R, Parke Davis)

2.2.6. POSITIONIERUNGSKONTROLLE

Um zu gewährleisten, daß von jeder Ratte der gleiche Darmabschnitt bestrahlt wurde, mußte unmittelbar vor der Bestrahlung am hängenden Tier eine Positionierungskontrolle durchgeführt werden. Dazu wurde zunächst ein mit einem Gleitmittel versehener Metallstift (50 x 3 mm) vorsichtig in den entleerten Darm der narkotisierten Ratte eingeführt. Anschließend wurde das Tier mit dem eingeführten Stift an der Bleiplatte fixiert. Orientierungslinien auf der Bleiplatte erleichterten die Positionierung vor dem Fenster. Dann wurde mit einer niedrigen Strahlendosis bei 120 kV und 4 mA mehrere Sekunden lang ein Polaroidfilm (Typ 52) in einer Filmkassette belichtet. Die Kassette befand sich dazu, an einem Stativ befestigt, bauchwärts vor dem Tier. Nach einer kurzen Entwicklungszeit zeigte die Kontrollaufnahme die Position des Metallstiftes und damit des Darms im Fenster der Platte an. Seitliche Abweichungen von der mittleren Längsachse des Fensters oder Verschiebungen in der Längsrichtung verlangten eine Positionskorrektur mit nochmaliger Kontroll-

aufnahme. Mit diesem Verfahren war eine Genauigkeit der Positionierung von ± 1 mm möglich.



Abb. 2.2-3: Polaroidaufnahme des eingeführten Metallstiftes zur Kontrolle der korrekten Lage des Darms im Bestrahlungsfeld.

2.3. SEKTIONSTECHNIK

Jedes bestrahlte Tier wurde nach dem Abtöten seziiert und der festgestellte Befund auf ein vorgefertigtes Protokollblatt notiert. Die Sektion wurde in folgender Weise durchgeführt: Zunächst wurde die Bauchhöhle nach vorheriger Enthäutung durch einen Medianschnitt vom Beckenboden bis zum Xiphoid eröffnet. Nach zusätzlichen Querschnitten wurden die Bauchdecken zur Seite geklappt. Nun wurde der Enddarm freigelegt, indem erst der Beckenboden durchtrennt und dann der Urogenitaltrakt entfernt wurde. (Im Bestrahlungsbereich beobachteten wir oft Adhäsionen von Darm und Uterus). Der freigelegte Enddarm wurde durch einen ventralen Längsschnitt am Anus beginnend eröffnet.

2.4. HISTOLOGISCHE METHODE

Für die histologischen Untersuchungen wurden Längsschnittpräparate des bestrahlten Darmabschnitts angefertigt. Der ventral eröffnete Enddarm wurde vorsichtig am Mesenterium abgetrennt und ein genügend langes (d.h. mit Einbeziehung der unversehrten Zonen kranial und kaudal des Bestrahlungsfeldes) Segment gewonnen, das auf ein Korkbrettchen gespannt wurde. Die Konservierung erfolgte in 70% Äthanol nach einer 24-stündigen Fixierung in einer Eisessig-Äthanol-Lösung (1:3). Nach der Einbettung in Paraplast wurden von jedem Darmsegment mindestens zwei Längsschnitte im mesenteriumnahen Bereich hergestellt und anschließend mit H.-E. (Hämatoxylin-Eosin) gefärbt. Im Rahmen der Therapieexperimente kam darüber hinaus auch eine Färbung mit der PAS-Reaktion (Perjodsäure-Schiff-Reaktion) zur Anwendung.

2.5. STATISTIK

2.5.1. DAS GRENZPRODUKTVERFAHREN ZUR BERÜCKSICHTIGUNG KONKURRIERENDER EREIGNISSE

Im Kapitel über die Wahl des Bestrahlungsfeldes wurde darauf hingewiesen, daß neben dem gewünschten Darmabschnitt auch noch andere Organe im Bestrahlungsfeld lagen (Blase, distales Drittel der Ureteren, Uteruskörper mit Anfangsteil der Hörner, Cauda equina des Rückenmarks). Von den pathologischen Veränderungen dieser Organe nach der Bestrahlung erwiesen sich die Reaktionen der Ureteren als die gravierendsten. Gestaute Ureteren führten zu schweren Formen von Pyelonephritis oder Hydronephrose, was gegebenenfalls das Abtöten des Tieres erforderte. Ausfälle solcher Art spielten aber bei den Therapieversuchen nur eine sehr untergeordnete Rolle. Auf Grund der hohen Dosen und der fehlenden Effizienz der eingesetzten Medikamente kam es zu sehr kurzen Latenzzeiten,

Hydronephrosefälle machten sich aber erst bei längeren Latenzzeiten im vollen Umfang bemerkbar. Bei den Diätversuchen, die durch langes Überleben der Ratten gekennzeichnet waren, traten trotz hoher Strahlendosen wenige Fälle von Hydronephrosen auf, was für eine Beteiligung der Darmreaktion an der Entstehung eines Stauungsureters spricht. Anders waren die Verhältnisse bei den Fraktionierungsexperimenten. Hier kam es zu erheblichen Verlusten während der Beobachtungszeit.

KISZEL stellte bei seinen Versuchen die Häufigkeit der einzelnen Nebenerscheinungen während der Beobachtungszeit fest. Für diese Arbeit mag der Hinweis genügen, daß bei den Fraktionierungsexperimenten die Häufigkeit der konkurrierenden Ereignisse der von KISZEL beobachteten in etwa gleicht, wobei betont werden muß, daß Todesfälle, die nicht durch Darmverschluß verursacht wurden (in den Tabellen mit Verlust bezeichnet), fast immer auf schwere Nierenschäden zurückzuführen waren.

Dem Auftreten konkurrierender Ereignisse bei der Enddarmbestrahlung mußte hinsichtlich der Auswertung der Ergebnisse Rechnung getragen werden. Zur Erstellung von Überlebenskurven und Dosiseffektkurven kam das sogenannte Grenzproduktverfahren (KAPLAN und MEIER, 1958) zur Anwendung, das auch KISZEL für die geeignetste Auswertungsmethode der Darmbestrahlung hielt. Bei der Entwicklung von mathematischen Verfahren zur Berücksichtigung konkurrierender Ereignisse war man davon ausgegangen, daß die gewerteten Ereignisse und Verluste unabhängig von einander auftraten. Als Besonderheit bei den Diätversuchen wurde erwähnt, daß trotz hoher Dosen und langer Zeiten nach Bestrahlung kaum letale Nierenschäden die Ergebnisse beeinträchtigten. Offenbar wurden die Ureteren indirekt dadurch geschont, daß am bestrahlten Darm wegen der Diät schwerwiegende Veränderungen ausblieben. KISZEL wies darauf hin, daß die Ureteren, die in der Höhe

des Bestrahlungsfeldes dicht am Darm von dorsal nach ventral vorbeilaufen, in "die perirectale Verklebungs- und Verwachsungszone miteinbezogen und dadurch komprimiert werden können". Abgesehen von weiteren, denkbaren, im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht nachprüfbaren Wechselbeziehungen zwischen Darmschäden und Ureteren-, bzw. Nierenschäden, kann also von einer Unabhängigkeit des Auftretens von Ileus und Hydronephrose nicht gesprochen werden. Auf Grund dieser Tatsache wurde bei den Überlebenskurven, deren Berechnung nach dem Grenzproduktverfahren von einer Unabhängigkeit zwischen Ereignissen und Verlusten ausging, zusätzlich eine obere und untere Grenze gegebenenfalls mitangegeben. Die obere Grenze berücksichtigt nur die wegen Darmverschluß gestorbenen Tiere, geht also davon aus, daß die aus anderen Ursachen gestorbenen Tiere keinen Darmverschluß erlitten hätten. Die untere Grenze läßt die Todesursachen undifferenziert. Das Grenzproduktverfahren teilt den Beobachtungszeitraum in Intervalle auf, wobei jedes Intervall nur ein betrachtetes Ereignis enthält und mit diesem endet. Für jedes Intervall wird eine Überlebenswahrscheinlichkeit errechnet. Tiere, die an einem konkurrierenden Ereignis sterben, erhalten bei dieser Methode die gleiche Überlebenswahrscheinlichkeit wie das nächste am betrachteten Ereignis (in unserem Fall Darmverschluß) gestorbene Tier. Die Berechnung der jeweiligen Überlebenswahrscheinlichkeiten erfolgte mittels eines Rechenprogramms an einem Kleinrechner. Eine eingehende Darstellung der Problematik von konkurrierenden Risiken und ihrer Berücksichtigung durch verschiedene mathematische Verfahren findet man bei KAPLAN und MEIER (1959). KISZEL diskutierte die Anwendbarkeit der herkömmlichsten Verfahren auf unser Versuchsmodell.

2.5.2. DARSTELLUNG DER LATENZZEITEN

Die Latenzzeiten nach der Bestrahlung bis zu dem betrachteten Ereignis Darmverschluß wurden für die einzelnen Behandlungsgruppen auf zwei verschiedene Weisen bestimmt. Der einen Methode, von KAPLAN und MEIER (1958) eingehend beschrieben, liegt das Integral über die Überlebenskurve vom Anfang bis zum Ende des Beobachtungszeitraums zugrunde. Die obere Grenze dieses Integrals (gemessen in Tagen) fällt mit dem Ende des Beobachtungszeitraums zusammen, die untere Grenze mit dem Zeitpunkt des ersten Darmverschlusses nach Bestrahlung. Als Beobachtungszeitraum wurden, wie bei KISZEL, 200 Tage angesetzt. Innerhalb dieses Zeitraums ereigneten sich bei den Therapieexperimenten alle Darmverschlüsse, während es bei den Fraktionierungsserien auch jenseits dieser Grenze vereinzelt zu Darmverschlüssen kam. Der Berechnung des Integrals über die Überlebenskurven wurden die durch das Grenzproduktverfahren ermittelten Überlebenswahrscheinlichkeiten der einzelnen Gruppen zu Grunde gelegt. In den betreffenden Tabellen werden die auf diese Weise bestimmten Latenzzeiten mit $/u_{200}$ bezeichnet.

Als zweite Methode diente der Medianwert m_{200} der Zeitpunkte von Darmverschlußereignissen innerhalb 200 Tage. Diese Methode erwies sich bei den Therapieexperimenten als günstig, weil da die Ereignisse meist dicht zusammenlagen. Bei den Fraktionierungsversuchen war sie weniger geeignet, weil bei einigen Dosisgruppen innerhalb des Beobachtungszeitraums kein Darmverschluß auftrat und der m_{200} -Wert bei unendlich anzusetzen war. Zur Bestimmung der $/u_{200}$ bzw. m_{200} -Werte bei den Fraktionierungsexperimenten wurde vom Tag der letzten Fraktion ausgegangen. Bei den Diätversuchen kam noch eine weitere Methode der Latenzzeitdarstellung zur Anwendung. Und zwar handelte es sich um die Latenzzeiten zwischen Wiederaufnahme der Normalkost und Darmverschluß. Sie wurden mit dem einfachen Mittelwert ausgedrückt.

3. ERGEBNISSE

3.1. KLINIK DER STRAHLENREAKTION

Die Tiere wurden nach der Bestrahlung einer regelmäßigen palpatorischen Kontrolle unterzogen. Etwa eine Woche nach Bestrahlung mit Einzeldosen über 20 Gy traten bei den Ratten Schleim- und Blutbeimengungen im Kot auf, als Zeichen einer akuten Strahlenreaktion der Mucosa. Diese Symptome hielten mehrere Tage an. Dann folgte ein symptomfreies Intervall von mindestens 14 Tagen. Der chronische Strahlenschaden manifestierte sich allmählich durch schmäler werdende Kotballen, reduzierte Defäkationshäufigkeit und schließlich durch eine palpatorisch leicht feststellbare Anschoppung der Kotballen im Colon descendens. Innerhalb weniger Tage kam es zu einer deutlichen Umfangsvermehrung des Abdomens. Die Tiere hatten gesträubtes Fell und waren apathisch. Das Colon descendens war in seiner ganzen Länge als fingerdicke, feste Säule tastbar. Die proximalen Colonabschnitte zeichneten sich deutlich nach außen hin ab. In diesem Stadium wurden die Tiere mit Äther getötet und anschließend sezziert.

3.2. SEKTIONSBEFUND

Normalerweise ist das Colon descendens ein wenige Millimeter breites Band, das durch vereinzelte Kotballen ein perlschnurartiges Aussehen erhält. Im Bereich der Kotballen liegt der maximale Durchmesser bei 8 mm. Unversehrt ist die Darmwand des Kolons nur 0,4 mm dick und transparent. Wie krass der pathologische Befund von den Normalverhältnissen abweicht, demonstriert die Abb.3.2-1, welche die eröffnete Bauchhöhle einer wegen Darmverschluß getöteten Ratte zeigt.



Abb. 3.2-1: Sektionsbefund einer wegen Darmverschluß getöteten Ratte. Der Dickdarm ist, besonders im Zaekumbereich, enorm aufgetrieben. Das Colon descendes, etwa zur Hälfte eröffnet, fällt als kompakte Säule auf, was durch die Kotanschoppung bedingt ist. Der Pfeil auf dem Photo weist auf die typische ringförmige Ulzerationszone im Bestrahlungsbereich, die von grauweißlicher Farbe ist und am ungeöffneten Darm auch von außen sichtbar ist. Die Transparenz der Darmwand ist an dieser Stelle aufgehoben.

Die mit dem Pfeil gekennzeichnete, bis zu 10 mm breite Ulzerationszone im Bestrahlungsfeld war für die Anschoppung der Kotballen und das Auftreten eines irreversiblen Ileus verantwortlich. Distal der Ulzerationszone war der Darm meist leer und erheblich dünner. Warum bei einer bestrahlten Darmlänge von 24 mm die Ulzerationszone längst nicht diese Ausdehnung, sondern maximal 10 mm umfaßte, kann durch bessere Regeneration an den Rändern des Bestrahlungsfeldes, sowie vor allem durch Schrumpfungsvorgänge erklärt werden. In seltenen Fällen wurden im Bestrahlungsbereich polypöse Schleimhautwucherungen beobachtet, die ab und zu auch zum Ileus führten. Das Mesenterium von Colon descendens und Rectum war im Bestrahlungsbereich oft deutlich verkürzt und verdickt.

3.4. ALLGEMEINER HISTOPATHOLOGISCHER BEFUND

Vor der Darstellung der Therapieexperimente soll der zeitliche Ablauf histologischer Veränderungen nach lokaler Bestrahlung des Rattenenddarms skizziert werden. Dieser Ablauf wurde von KISZEL im Detail an Hand einer histologischen Serie für verschiedene Dosisgruppen erarbeitet. Bei einer mittleren Dosis (LD-50 = 20,2 Gy) treten im wesentlichen folgende Vorgänge auf:

Die ersten sechs Tage nach Bestrahlung sind durch die Abbau-phase des Darmepithels (Abflachung der Kryptenschläuche, Zelluntergänge, zystische Kryptenreste), das Auftreten von Entzündungszellen in der Lamina propria und den Krypten und durch eine ödematöse Verbreiterung der Submucosa gekennzeichnet. Am 9.Tag lassen sich an den Rändern des Bestrahlungsfeldes Regenerationsvorgänge des Epithels beobachten, weiterhin fällt eine diffuse Auflockerung der Tunica muscularis auf. Eine Woche später finden sich innerhalb der Lamina propria der Mucosa regenerierende Epithelinseln. Am 21.Tag kann man an den Gefäßen eine Intimaverdickung

beobachten und in der Submucosa Faservermehrung, vor allem perivascular angeordnet. In der Mucosa bleiben Erosionszonen zurück, es kommt zu keiner vollständigen Regeneration. Massive Gefäßveränderungen (fibrinoide Verquellungen der Wände) treten 4 Wochen nach Bestrahlung auf. Innerhalb der nächsten Wochen kann aus den bleibenden Erosionszonen ein Ulcus entstehen, das manchmal bis zur Subserosa reicht. Die damit verbundene Schädigung oder weitgehende Zerstörung der Tunica muscularis führt nach der Ansicht von KISZEL zum Erliegen der Transportfunktion und damit zum Ileus, wobei die submuköse Fibrose und die oft auftretende subseröse Bindegewebsvermehrung den Prozeß unterstützten.

3.5. THERAPEUTISCHE MASSNAHMEN

3.5.1. ALLGEMEINES UND VORÜBERLEGUNGEN

Die Strahlenreaktion des Darms ist auf vielfältige Weise beeinflussbar. In der Klinik lassen sich dabei prophylaktische und therapeutische Maßnahmen unterscheiden, wobei die Trennung nicht immer scharf ist. Die Therapie einer Frühreaktion kann unter Umständen auch als Prophylaxe gegenüber Spätschäden eingestuft werden. Die prophylaktischen Maßnahmen erfolgen vor und während der mehrwöchigen Behandlungszeit. Dazu gehören zum Beispiel die individuelle Bestimmung des Bestrahlungsfeldes, der Dosierung und Fraktionierung, aber auch die Anwendung einer Schondiät (G.BOUNOUS, 1973) oder die Zufuhr physiologischer Darmflora während der Behandlungszeit (NEUMEISTER, 1973). Die therapeutischen Maßnahmen werden nach dem Auftreten von Symptomen getroffen. Als Therapievorschl ag bei Frühreaktionen, wie sie während oder gegen Ende der Behandlungszeit auftreten (meist handelt es sich um Durchfall, Stuhldrang und Blutungen), findet man in der Literatur neben der Anwendung von Anti-

biotika, Corticosteroiden und Mitteln zur Durchfallbekämpfung auch die Umstellung des Patienten auf schlackenarme Diät (ROSWITT 1972, RUBIN, CASARETT 1968, LENNER 1980, NEUMEISTER 1973). Bei der konservativen Behandlung von Spätschäden (meistens handelt es sich um stenosebedingte Subileuszustände) wird ebenfalls auf die Möglichkeit einer schlackenarmen Ernährung hingewiesen. Der echte Nutzen von Antibiotika und Corticosteroiden in diesem Stadium ist nicht gesichert (RUBIN, CASARETT 1968). Bei den innerhalb der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen über eine medikamentöse bzw. diätetische Beeinflussung des chronischen Strahlenschadens sollten nicht nur neue prophylaktische und therapeutische Ansatzpunkte gewonnen werden. Der Einsatz verschiedener Mittel und Methoden sollte auch besseres Verständnis für die komplizierte, noch längst nicht hinreichend geklärte Pathogenese des chronischen Strahlenschadens am Darm ermöglichen. Über die Ursache der Strahlenulcuserstehung findet man zahlreiche Theorien. Zu den wichtigsten gehören (ZOLLINGER, 1960):

1. Das Ulcus als direkte Strahlenfolge (Epithelschaden).
2. Das Ulcus vorwiegend vasculär bedingt (Strahlenschäden der Gefäße).
3. Das eigentliche Ulcus entsteht nach einem strahlenbedingten Epitheldefekt durch die Reizwirkung des Darminhalts und eine zusätzliche Infektion.

KISZEL (1983) erklärt die Ulcusgenese damit, daß bei höheren Strahlendosen nach der Regenerationsphase Erosionszonen zurückbleiben, die im Lauf der Zeit exazerbieren können. Für die unzureichende Epithelialisierung der Erosionszonen müßten Veränderungen im Stroma (Gefäßschäden, perivascularäre Fibrose, submucöses Ödem) verantwortlich gemacht werden, welche die Diffusion zwischen Kapillaren und Epithelzellen stören und somit die Versorgung beeinträchtigten. Weiterhin spricht KISZEL der mechanischen Belastung des unzureichend regenerierten Epithels sowie Bakterietoxinen eine mögliche Rolle in der Ulcusgenese zu.

3.5.2. MEDIKAMENTÖSE BEEINFLUSSUNG

3.5.2.1. VERSUCH (I)

Zunächst wurde die Bedeutung des bakteriellen Schadens und der entzündlichen Prozesse (frühes Ödem, spätere Fibrose) hinsichtlich der Ulcuse Entstehung untersucht. Dazu bot sich neben einer antibiotischen Therapie die Anwendung eines entzündungshemmenden Mittels an. Wir entschieden uns für Neomycin zur Antibiose und für Azulfidine^R und Betnesol^R-Rektalinstitution, einem Corticoidklysma²⁾, zur Dämpfung der entzündlichen Prozesse.

Neomycin, ein Aminoglykosidantibiotikum mit einem breiten Wirkungsspektrum, vor allem gegenüber coliformen Keimen, hat bei oraler Anwendung den Vorteil, daß es nur minimal resorbiert wird. Es wird u.a. häufig zur präoperativen Darmsterilisation verwendet.

Azulfidine^R ist eine Verbindung von Sulfapyridin, einem Sulfonamidderivat mit 5-Amino-Salicylsäure. Dem Mittel werden bakteriostatische und antiphlogistische Wirkungen zugesprochen. Zum klinischen Einsatz kommt es vorwiegend bei Erkrankungen des Dickdarms (Colitis ulcerosa, Morbus Crohn).

Neomycin und Azulfidine^R wurden täglich in einer Menge von 140 mg bzw. 700 mg/l ins Trinkwasser gemischt. Diese Medikation ergab bei einem täglichen Wasserverbrauch von etwa 30 ml pro Tier eine tägliche Neomycin- bzw. Azulfidine^R-aufnahme von 4 bzw. 20 mg. Die Dosierung folgte den Literaturangaben über orale Anwendung von Neomycin und Sulfonamiden bei der Ratte (ROSOFF, 1963; MELBY et al., 1974). Die Antibiotikaversorgung wurde vom Bestrahlungstag an kontinuierlich durchgeführt.

Betnesol^R-Rektalinstitution ist ein Corticoidklysma, das in der Klinik zur Behandlung von Colonerkrankungen (Colitis ulcerosa, radiogene Colitis) herangezogen wird. Auch dieses Mittel wurde zunächst als Dauermedikation vom Bestrah-

²⁾ In der Folge immer als "Cortison" bezeichnet.

(Hersteller von Betnesol^R und Azulfidine^R, Glaxo bzw. Pharmacia)

lungstag an gegeben. Dafür sprachen folgende Überlegungen: Innerhalb weniger Tage nach Bestrahlung kommt es, wie erwähnt, zum submucösem Ödem, das zu einer bleibenden Verbreiterung der Darmwand beiträgt. Glucocorticoide reduzieren bekanntlich die Gefäßpermeabilität und hemmen außerdem das Wachstum der Fibroblasten und die Kollagensynthese. Betnesol^R-Rektalinstillation enthält Betamethason (5 mg/100 ml), ein synthetisches Cortisonderivat, das die 30-fache Wirkungsstärke von natürlichem Cortison besitzt. Um die Nebenwirkungen einer hochdosierten Corticoid-Langzeittherapie zu vermeiden, wurde die relativ niedrige Dosierung von 1 ml der Instillationslösung (0,05 mg Betamethason) pro Tier und Tag gewählt. Das Mittel wurde über eine vorsichtig in den Darm eingeführte 1 ml-Spritze direkt am Bestrahlungsbereich abgesetzt. Dazu wurden die Ratten in Äther kurz betäubt. Mittels eingeführter 1 ml-Spritze wurde die Gruppe mit der kombinierten Behandlung (Antibiotika und Cortison) versorgt. Bei der Gruppe mit der alleinigen Cortisonbehandlung (sie wurde zwei Monate später bestrahlt) wurde die Applikationstechnik geändert. Um den bestrahlten Darmabschnitt zu schonen, wurde das Corticoidklysma über eine Knopfkanüle verabreicht, die den Darm weniger mechanisch belastet als es bei der eingeführten Spritze der Fall ist.

An einer weiteren Gruppe wurde eine unspezifische "Heilsalbe" getestet. Die Salbe mit der Bezeichnung Unguentum Lymphaticum (Pharmazeutische Präparate Astrapin, Dr. K. Hoffmann) besteht aus einer Reihe von pflanzlichen Inhaltsstoffen, u.a. Colchicin, Podophyllin, Digitalis und Schierlingsextrakte. Dem Hersteller zufolge verfügt diese Salbenzubereitung über anti-phlogistische und wundheilungsfördernde Wirkungen. Die damit behandelte Gruppe erhielt die Salbe nach vorheriger Erwärmung lokal über eine Knopfkanüle und zwar in der Menge von 1 ml pro Tier und Tag.

3.5.2.1.1. AUSFÜHRUNG

Um die spezifische Wirkung dieser Mittel zu erkennen, verabreichten wir sie sowohl kombiniert als auch allein. Wir stellten fünf Behandlungsgruppen mit je 10 Tieren zusammen. Davon erhielt eine Gruppe Antibiotika und Cortison, zwei weitere Antibiotika oder Cortison und eine vierte die Heilsalbe. Eine fünfte Gruppe diente als Kontrolle. Alle Gruppen wurden mit der aus den früheren Versuchen bekannten LD 90 (23,0 Gy) bestrahlt. Von der hohen Dosis konnte am ehesten der eindeutige Nachweis einer eventuell günstigen medikamentösen Beeinflussung von Überlebenszeit bzw. -rate erwartet werden.

3.5.2.1.2. ERGEBNIS

Eine systematische Darstellung sämtlicher Ergebnisse aller Therapieexperimente wäre unübersichtlich und würde dem Ablauf der Versuche nicht entsprechen. Die Experimente erfuhren ihre Fortsetzung immer nach der Auswertung und Interpretation von Zwischenergebnissen.

Versuch (I): Ein Blick auf die Überlebenskurven der fünf Gruppen (Abb. 3.5.2.1, a-e) zeigt, daß keine der angewandten Therapieformen die Letalität entscheidend senken konnte, doch traten Unterschiede bei den Werten für die Latenzzeiten auf. Diese waren bei den einer Therapie unterzogenen Gruppen gegenüber der Kontrolle zumindest leicht erhöht. Die Tabelle 3.5.2.1 - a stellt Latenzzeiten und Ereignisse (Darmverschluß oder Tod aus anderer Ursache = Verlust V) aller fünf Gruppen zusammen. Sowohl die Medianwerte m_{200} als auch die Werte für das Integral über die Überlebenskurve bis zum 200. Tag $\int_{0}^{200}$ sind gegenüber der Kontrolle erhöht, am deutlichsten bei der Gruppe mit der kombinierten Behandlung. Hier erreichte $\int_{0}^{200}$ einen Wert von 106,8 Tagen

gegenüber 52,2 Tagen der Kontrollgruppe.

Die Abb. 3.5.2.1-f zeigt die Überlebenskurven der Kontrollgruppe, der mit Salbe behandelten Tiere und der Gruppe mit der kombinierten Behandlung.

Die histologische Untersuchung der am Darmverschluß gestorbenen Tiere ergab keinen Anhaltspunkt für einen therapeutischen Einfluß. In jedem Fall war ein Ulcus die Ursache für den Ileus. In ihrer Struktur ähnelten sich diese Ulcera bei allen Behandlungsgruppen. Die Abb. 3.5.2.1-g zeigt das tiefe Ulcus eines Tieres aus der kombiniert behandelten Gruppe.

Die tägliche Antibiotikazufuhr konnte den Bakterienrasen auf der Ulcusoberfläche nicht verhindern.

Abb. 3.5.2.1.,a - e: Medikamentöse Beeinflussung, Versuch (I)
Überlebensrate mit oberer (----) und unterer (-.-.-) Grenze
in Abhängigkeit von der Zeit t nach Bestrahlung für die
einzelnen Behandlungsgruppen. Berechnung nach dem Grenzpro-
duktverfahren zur Berücksichtigung konkurrierender Ereignis-
se. Am Ende des Beobachtungszeitraums (200 Tage) Angabe der
Standardabweichung σ . 10 Tiere je Gruppe, Dosis: 23,0 Gy.

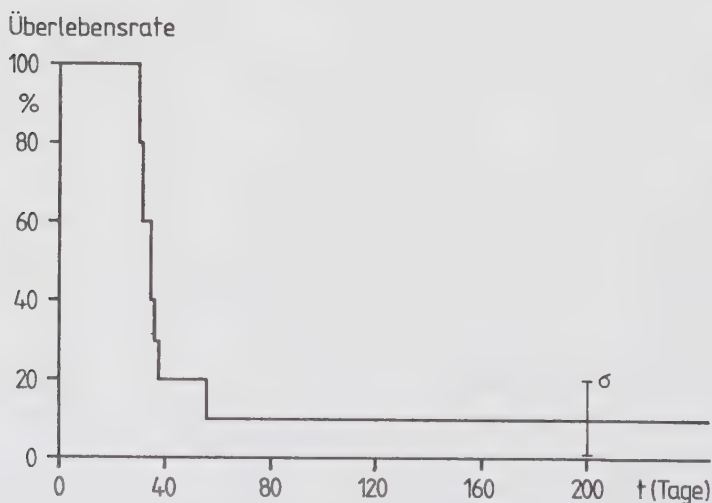


Abb. 3.5.2.1-a: Überlebenskurve Versuch (I)
Kontrollgruppe

Überlebensrate

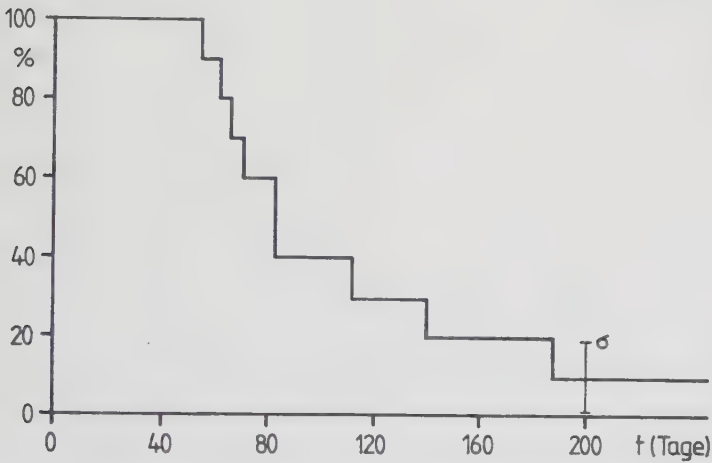


Abb. 3.5.2.1-b: Überlebenskurve Versuch (I)
Kombinierte Behandlung, Antibiotika und Cortison

Überlebensrate

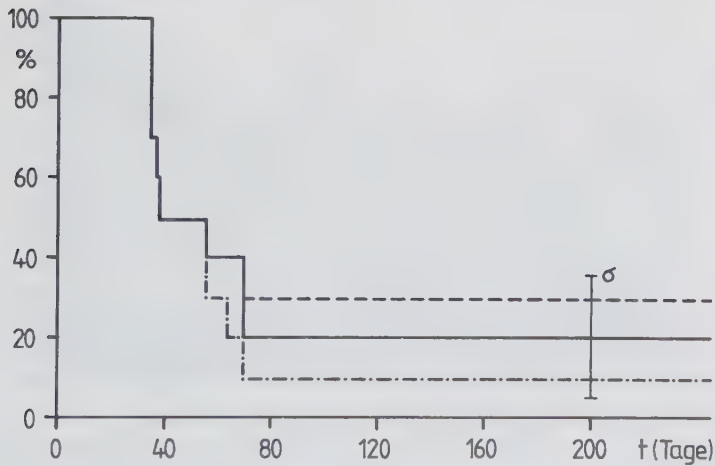


Abb. 3.5.2.1-c: Überlebenskurve Versuch (I)
Alleinige Behandlung mit Antibiotika

Überlebensrate

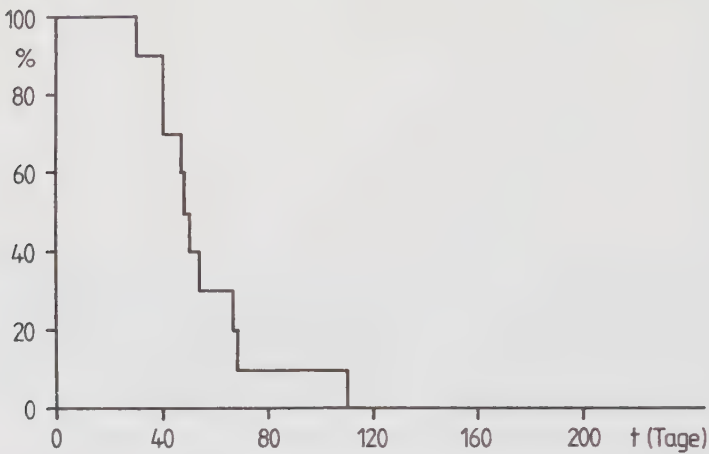


Abb. 3.5.2.1-d: Überlebenskurve Versuch (I)
Alleinige Behandlung mit Cortison

Überlebensrate

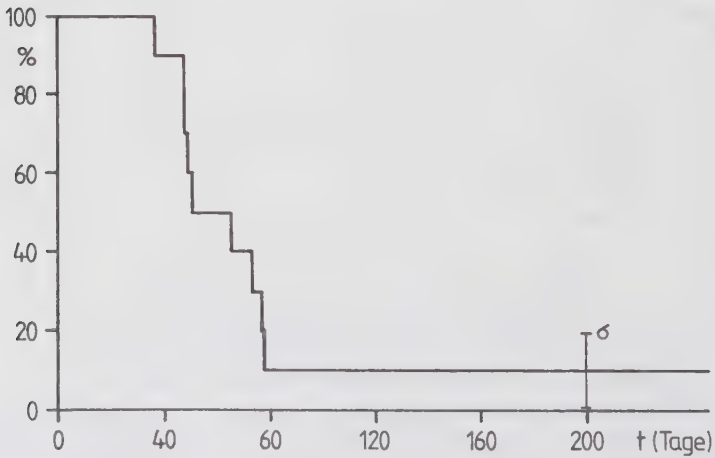


Abb. 3.5.2.1-e: Überlebenskurve Versuch (I)
Behandlung mit der "Heilsalbe"

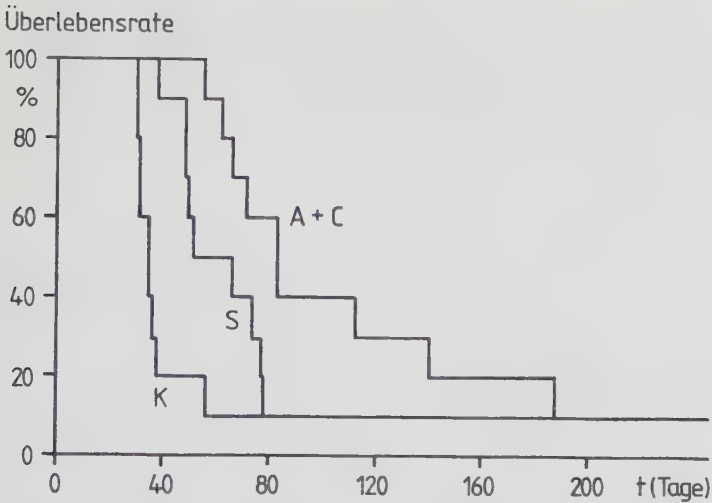


Abb. 3.5.2.1-f: Überlebenskurven Versuch (I)
Kontrollgruppe (K), Behandlung mit Salbe (S), kombinierte
Behandlung mit Antibiotika und Cortison (A + C)



Abb. 3.5.2.1-g: Rectumulcus 140 Tage nach Bestrahlung (23,0 Gy)
Trotz täglicher Behandlung mit Antibiotika und Cortison
völlige Zerstörung der Mucosa und Submucosa, Zellinfiltra-
tion der Tunica muscularis und hochgradige subseröse Ge-
websproliferation. (H.-E.-Färbung, 20 x)

Tab. 3.5.2.1-a: Medikamentöse Beeinflussung, Versuch (I)
Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E
(Darmverschluß D bzw. Verlust V) nach Bestrahlung, sowie
die μ 200 bzw. m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für
die einzelnen Behandlungsgruppen.

10 Tiere je Gruppe, Dosis: 23,0 Gy

Kontrollgruppe

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	30	30	31	31	35	35	36	38	56	434
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	V

μ 200 = 52,2 m 200 = 35

Kombinierte Behandlung mit Antibiotika und Cortison

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	55	62	66	71	83	83	120	140	188	301
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	V

μ 200 = 106,8 m 200 = 83

Alleinige Behandlung mit Antibiotika

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	35	35	35	37	38	56	56	64	70	462
E	D	D	D	D	D	D	V	V	D	V

μ 200 = 77,6 m 200 = 37

Alleinige Behandlung mit Cortison

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	31	41	41	48	49	51	55	68	69	111
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

μ 200 = 56,4 m 200 = 50

Behandlung mit der "Heilsalbe"

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	38	48	48	49	51	66	73	73	78	412
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

μ 200 = 72,6 m 200 = 58,5

3.5.2.2. VERSUCH (II)

Ausgehend von dem Ergebnis, daß eine kombinierte Anwendung von Antibiotika und Cortison die Überlebenszeit deutlich verlängert hatte, wurde bei der Fortführung dieser Untersuchungen dieses Behandlungsschema beibehalten. Während im Versuch (I) alle Behandlungsgruppen mit der gleichen Dosis (23,0 Gy) bestrahlt worden waren, wurden diesmal zwei niedrigere Dosen gewählt und zwar die LD 60 (20,5 Gy) und die LD 30 (18,0 Gy). Weiterhin erschien eine zeitliche Beschränkung der Cortisonapplikation der Untersuchung wert: man ging dabei von der Vorstellung aus, daß die Beschränkung der Cortisonanwendung auf die ersten sechs Tage nach Bestrahlung die frühe Ödembildung dämpfen sollte, ohne die daraufhin einsetzenden Regenerationsvorgänge zu beeinträchtigen. Auch diesmal wurde wieder ein wundheilungsförderndes Medikament getestet. Es handelte sich um Actihaemyl^R-Gelee 20%. Actihaemyl^R, ein Dialysekonzentrat aus Kälberblut, soll den zellulären oxydativen Energiestoffwechsel aktivieren und dadurch Prozesse mit hohem Energiebedarf wie zum Beispiel die Wundheilung fördern. In der Klinik wird Actihaemyl^R unter anderem auch zur Behandlung von chronischen Strahlenfolgen verwendet. (Hersteller von Actihaemyl^R, Byk Gulden)

3.5.2.2.1. AUSFÜHRUNG

Es wurden 8 Gruppen mit jeweils 10 Tieren gebildet. 2 Gruppen wurden mit der LD 30 bzw. LD 60 bestrahlt und täglich mit Neomycin und Cortison behandelt. Zwei weitere Gruppen wurden mit der LD 50 bzw. LD 90 bestrahlt und mit Neomycin und Cortison behandelt, wobei diese Gruppen das Cortison nur über sechs Tage vom Bestrahlungstag an erhielten. Einer fünften und sechsten Gruppe - mit der LD 50 bzw. LD 90 bestrahlt - wurde Neomycin und Actihaemyl^R-Gelee verabreicht. Die restlichen Gruppen, bestrahlt mit der LD 50

bzw. LD 90, dienten zur Kontrolle. Bei der Antibiotika-zufuhr wurde auf Azulfidine^R verzichtet und dafür die tägliche Neomycinmenge um 50% erhöht. Die tägliche Cortison-dosis wurde beibehalten, das Mittel wieder mit einer Knopfkanüle appliziert. Auf die gleiche Weise wurde das Actihaemylpräparat (1 ml Actihaemyl-Gelee täglich) eingebracht.

3.5.2.2.2. ERGEBNIS

Keine der angewandten Maßnahmen konnte die Entstehung dosisentsprechender Darmverschluß-Raten verhindern. Eine Erhöhung der Latenzzeiten trat diesmal nicht auf. Diese lagen sogar bei fast allen Behandlungsgruppen etwas unter denen der Kontrollgruppen. Die Überlebenskurven aller Gruppen (Abb.3.5.2.2. a-h) verdeutlichen dieses Ergebnis. Die Tabellen 3.5.2.2. a u. b mit den Latenzzeiten und Ereignissen aller Behandlungsgruppen demonstrieren eindeutig die relativ kurzen Latenzzeiten (besonders bei den beiden mit Actihaemyl^R behandelten Gruppen) und hohen Darmverschlußquoten der einzelnen Dosisgruppen. Für die histologische Untersuchung trifft das für die Ausgangsexperimente Gesagte zu: Typische Ulcera bei den Ileus-Todesfällen mit den bekannten pathologischen Veränderungen.

Abb. 3.5.2.2.,a-h: Medikamentöse Beeinflussung, Versuch (II): Überlebensrate mit oberer (----) und unterer (-.-.-) Grenze in Abhängigkeit von der Zeit t nach Bestrahlung für die einzelnen Behandlungsgruppen. Berechnung nach dem Grenzproduktverfahren zur Berücksichtigung konkurrierender Ereignisse. Am Ende des Beobachtungszeitraums (200 Tage) Angabe der Standardabweichung σ . 10 Tiere je Gruppe.

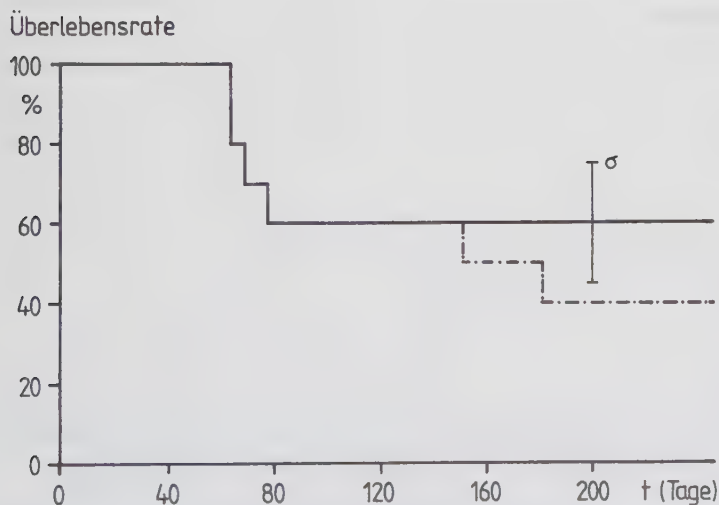


Abb. 3.5.2.2-a: Überlebenskurve Versuch (II)
Kontrollgruppe, Dosis: 19,5 Gy

Überlebensrate

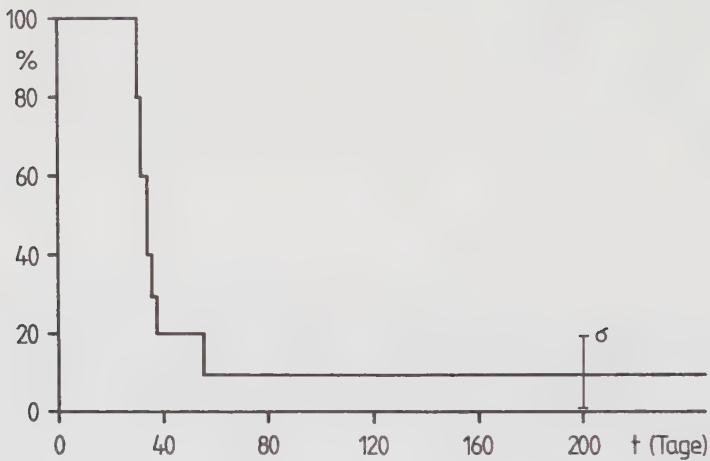


Abb. 3.5.2.2-b: Überlebenskurve Versuch (II)
Kontrollgruppe, Dosis: 23,0 Gy

Überlebensrate

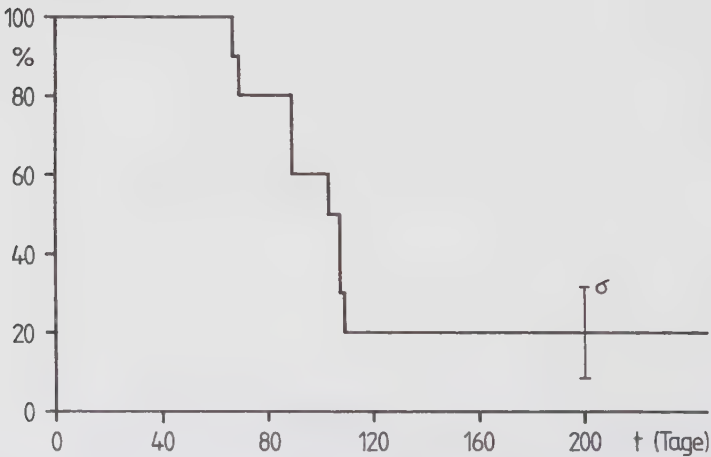


Abb. 3.5.2.2-c: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison, Dosis: 18,0 Gy

Überlebensrate

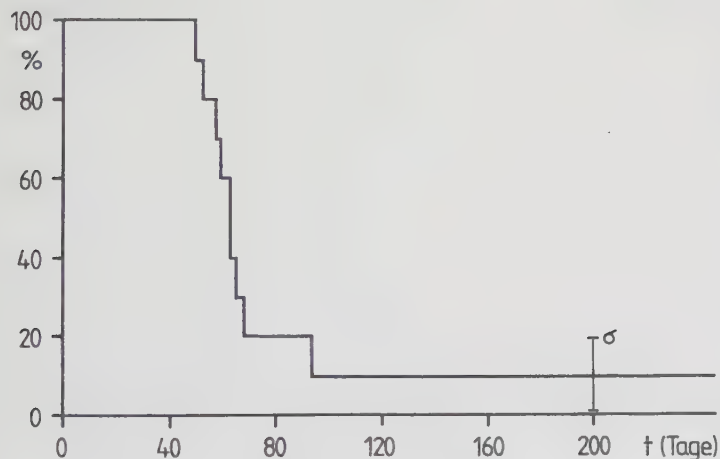


Abb. 3.5.2.2-d: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison, Dosis: 20,5 Gy

Überlebensrate

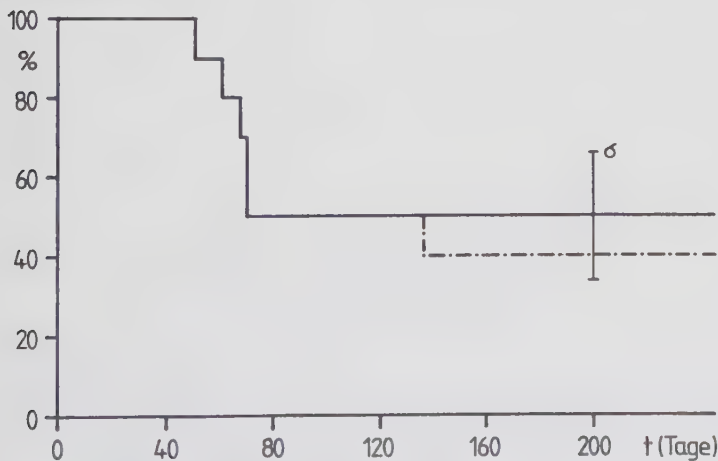


Abb. 3.5.2.2-e: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison (6 Tage),
Dosis: 19,5 Gy

Überlebensrate

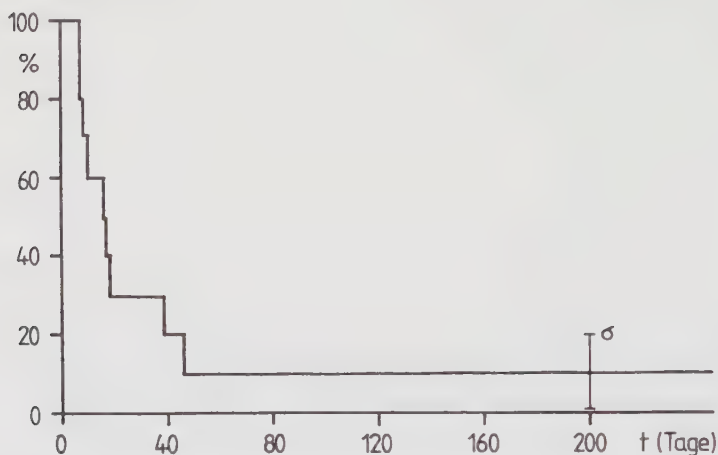


Abb. 3.5.2.2-f: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison (6 Tage),
Dosis: 23,0 Gy

Überlebensrate

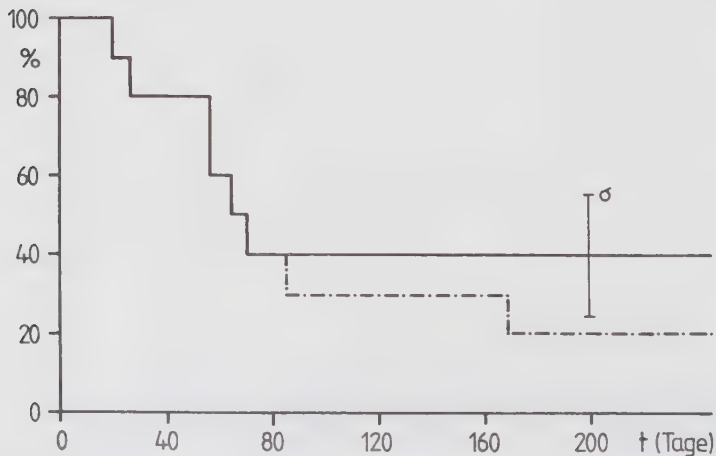


Abb. 3.5.2.2-g: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Actihaemyl ^R, Dosis: 19,5 Gy

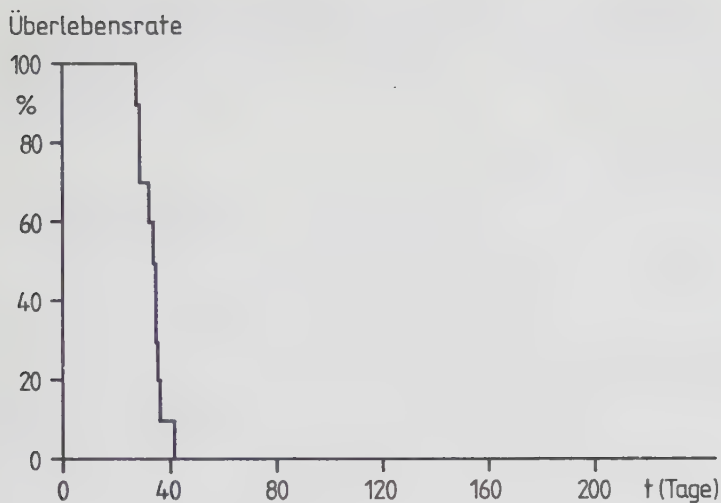


Abb. 3.5.2.2-h: Überlebenskurve Versuch (II)
Tägliche Behandlung mit Neomycin und Actihaemyl^R,
Dosis: 23,0 Gy

Tab. 3.5.2.2-a: Medikamentöse Beeinflussung, Versuch (II)
Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E
(Darmverschluß D bzw. Verlust V) nach Bestrahlung sowie
die μ 200 bzw. m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für
die einzelnen Behandlungsgruppen.
10 Tiere je Gruppe.

Kontrollgruppe, Dosis: 19,5 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	64	64	69	78	151	181	379	400	433	541
E	D	D	D	D	V	V	D	V	V	V

μ 200 = 147,5 m 200 = 66,5

Kontrollgruppe, Dosis: 23,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	30	30	31	31	35	35	36	38	56	434
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	V

μ 200 = 52,2 m 200 = 35

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison, Dosis: 18,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	67	70	90	90	104	108	108	109	437	556
E	D	D	D	D	D	D	D	D	V	V

μ 200 = 117,7 m 200 = 97

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison, Dosis: 20,50 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	50	53	58	59	63	63	65	69	94	568
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	V

μ 200 = 77,4 m 200 = 63

Tab. 3.5.2.2-b: Medikamentöse Beeinflussung, Versuch (II)
Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E
(Darmverschluss D bzw. Verlust V) nach Bestrahlung sowie
die μ 200 bzw. m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für
die einzelnen Behandlungsgruppen.
10 Tiere je Gruppe.

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison (6 Tage lang),
Dosis: 19,50 Gv

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	51	61	68	71	71	137	219	315	457	518
E	D	D	D	D	D	V	V	V	V	V

$\mu_{200} = 132,2$ $m_{200} = 68$

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Cortison (6 Tage lang),
Dosis: 23.00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	27	27	29	30	36	37	38	59	66	441
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	V
	$\mu_{200} = 54,9$					$m_{200} = 36$				

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Actihaemyl^R,
Dosis: 19.50 Gv

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	20	27	57	57	65	71	86	170	271	282
E	D	D	D	D	D	D	V	V	V	V

$\mu_{200} = 109,7$ $m_{200} = 57$

Tägliche Behandlung mit Neomycin und Actihaemyl^R,
Dosis: 23,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	28	29	29	33	34	35	35	36	37	42
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
	$\mu_{200} = 33,8$					$m_{200} = 34,5$				

3.5.3. DIÄTETISCHE BEEINFLUSSUNG

3.5.3.1. ALLGEMEINES UND VORVERSUCH

Im Einleitungskapitel zum Therapieversuch wurde darauf hingewiesen, daß in der Literatur beim Thema Behandlung von intestinalen Strahlenschäden immer wieder eine schlackenarme oder ballaststoff-freie Diät empfohlen wird. Es liegt nahe, den Darminhalt, die mechanische Wirkung der Kotballen auf die Schleimhaut des Enddarms, als wichtiges Glied in der Kausalkette der Ulcusentstehung anzusehen. In mehreren Tier-Experimenten wurde festgestellt, daß am bestrahlten Darm die üblichen Schäden leichter sind oder gar ausbleiben, wenn der bestrahlte Abschnitt durch operative Maßnahmen vom übrigen Darm getrennt und somit von der Fäzes-Passage befreit ist. (FRIEDMAN, 1955; CHANDLER SMITH, 1960; HIATT, 1967).

Unsere Ratten werden normalerweise mit Altromin^R, einem standardisierten Trockenfutter ernährt. Der Rohfaseranteil liegt bei 6% des Gesamtgewichts. Als Alternative dazu kam eine der sogenannten Formel- oder Elementardiäten in Betracht, welche in der Klinik u.a. auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa, Morbus Crohn) zum Einsatz kommen.

Diese Formeldiäten gingen aus der Weltraumforschung hervor, als man es für zweckmäßig befand, die Astronauten mit einer ballaststoff-freien, leicht resorbierbaren Vollnahrung zu ernähren. Die heute gebräuchlichen niedermolekularen Diäten werden fast vollständig in den oberen Dünndarmabschnitten resorbiert, wodurch es zur deutlichen Verminderung des Darminhalts, und damit zur Reduktion von Stuhlmenge und Frequenz kommt. Diese Eigenschaften ließen eine eingehende Untersuchung wert erscheinen.

Als ernstes Problem für ein Experiment mit einer solchen Diät erwies sich der Kostenpunkt. Formeldiäten sind teuer.

Die Preise liegen zwischen DM 8,-- und DM 23,-- pro 1000 kcal. Wenn man bedenkt, daß eine Ratte pro Tag 90 kcal in der Nahrung benötigt, erkennt man leicht die gewaltigen Kosten bei größeren Tierzahlen und mehrwöchiger Anwendungszeit.

Unser Experiment wurde von der Firma Pfrimmer unterstützt, indem sie die Diät BSD 1800 zur Verfügung stellte. BSD 1800 gehört zu den niedermolekularen Formeldiäten. Es enthält 16% Aminosäuren, 77% Oligosaccharide, weniger als 1% Fett, daneben Vitamine und sonstige Stoffe.

In einer Vorstudie wurde die Annahme der Diät durch die Ratten sowie die diätbedingte Veränderung von Stuhlmenge und Konsistenz untersucht. In Anlehnung an die Gebrauchsinformation zur Diät wurde ein Beutel BSD 1800 (80 g) in 400 ml lauwarmen Wasser gelöst. Dieses Gemisch (Energiegehalt 0,75 kcal/ml) wurde zwei Ratten in der Trinkflasche angeboten; zusätzlich erhielten sie Trinkwasser ad libitum. Um zu gewährleisten, daß wirklich nur Flüssignahrung zur Verfügung stand, also weder Streu, noch Kotballen aufgenommen werden konnten, wurden die beiden Tiere in einem einstreufreien Drahtkäfig gehalten, der von einer Plastikschale unterlegt war.

Die Flüssignahrung wurde von den Ratten bereitwillig angenommen. Der tägliche Kalorienverbrauch stieg von 70 kcal am ersten Tag auf 90 kcal für die folgenden. Vom angebotenen Trinkwasser wurde kein Gebrauch gemacht. Einen Tag nach Diätbeginn zählten wir zehn Kotballen pro Ratte, am zweiten Tag vier und am dritten zwei. Bei der Normalnahrung setzen die Tiere in 24 Stunden zwischen 10 und 15 Kotballen ab, wobei die Größe bis zu 20 x 8 mm betragen kann. Die Ballen sind hier von grobfaseriger, rauher und relativ harter Beschaffenheit. Infolge der Diät nahmen die Kotballen an Grösse ab und erreichten einen Durchschnittswert von 7 x 4 mm.

Ihre Konsistenz änderte sich grundlegend. Sie wurde weich und pastös.

Ein Problem stand noch offen: Bekanntlich gehört die Ratte zur Ordnung der Nagetiere, deren Gebiß die Besonderheit auszeichnet, daß die Schneidezähne von Ober- und Unterkiefer ständig nachwachsen. Dieses Dauerwachstum wird durch die Abnutzung ausgeglichen. Würde der Abschleiß auch bei einer Flüssignahrung gewährleistet sein? Wie es sich zeigen sollte, kam es in all den Diätversuchen kein einziges Mal zu einer Überlänge der Schneidezähne und damit zusammenhängenden Beeinträchtigungen.

3.5.3.2. PILOT EXPERIMENT

Zunächst sollte der Einfluß der Spezialdiät bei der LD 90 untersucht werden. Es wurden 10 Tiere mit 23,00 Gy bestrahlt und danach ausschließlich mit der Diät ernährt. Die Ratten wurden zu zweit im Drahtkäfig gehalten. Die Flüssignahrung wurde jeden Tag neu angerührt, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden. Innerhalb weniger Tage änderte sich Menge und Konsistenz des Stuhls in der im Vorversuch beschriebenen Weise. Etwa 10 Tage nach der Bestrahlung wiesen die Kotballen von allen Tieren Blut- und Schleim-Beimengungen auf. Diese Symptome waren nach einer Woche verschwunden.

7 Wochen nach Bestrahlung - kein Tier zeigte bis dahin Darmverschlusssymptome - wurden vier Tiere innerhalb einer Woche allmählich auf die normale Festnahrung umgestellt. Die restlichen sechs Tiere wurden bis zur einschließlichen 13. Woche nach Bestrahlung mit Flüssignahrung weiter ernährt und dann umgestellt.

Während der siebenwöchigen Diätdauer überlebten alle Ratten. Nachdem vier Tiere auf Normalkost umgestellt worden waren, kam es bei drei von ihnen zwischen vier und acht Wochen nach der Futterumstellung zum Darmverschluß. Bei den restlichen Tieren, die dreizehn Wochen lang Diät erhalten hatten, war dies zwischen der ersten und sechsten Woche nach Umstellung der Fall. Der Durchschnitt lag bei etwas mehr als vier Wochen (siehe auch Tabelle 3.5.3.2 -a). Wenn man die Überlebenskurven der Abbildung 3.5.3.2 -a betrachtet, die neben der Diätdauer auch die Kurve der Kontrollgruppe enthält, fällt sofort die eindeutige Verlängerung der Latenzzeiten bei der Diätgruppe auf. Der erste Darmverschluß ereignete sich bei der Diätgruppe zu einem Zeitpunkt, da von der Kontrollgruppe längst 90% der Tiere an Ileus gestorben waren.

Tabelle 3.5.3.2 -a: Diätetische Beeinflussung, Pilotversuch Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V) nach Bestrahlung.

Ernährung mit BSD 1800 (7 bzw. 13 Wochen), 10 Tiere,
Dosis: 23,00 Gy

Diätdauer: 49 Tage					Diätdauer: 91 Tage					
i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	80	85	107	424	99	120	121	128	128	133
E	D	D	D	V	D	D	D	D	D	D

Mittlere Latenzzeit nach Diätende: 41,6 bzw. 30,5 Tage

Überlebensrate

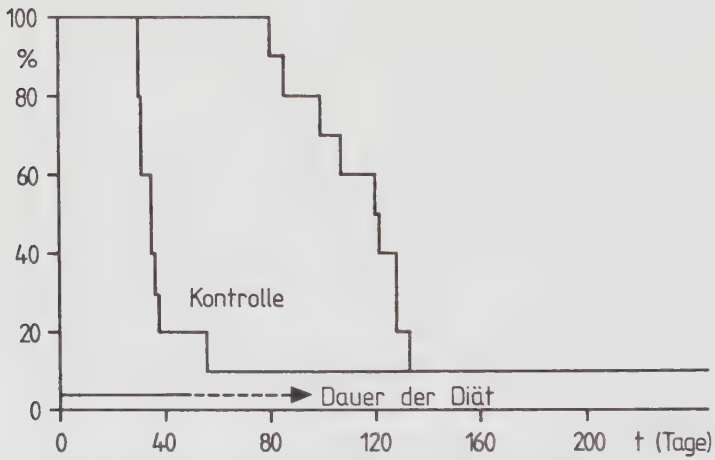


Abb. 3.5.3.2-a: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung. Pilotversuch, 10 Tiere je Gruppe, Dosis: 23,0 Gy

3.5.3.3. VERSUCHSAUSWEITUNG

Der eindeutig die Überlebenszeit verlängernde Effekt der Diät ermutigte zur Ausweitung des Versuchs. Folgenden Fragen sollte nachgegangen werden: Wie wirkt sich die Formel-diät bei anderen Strahlendosen aus? Können die Ratten noch länger als dreizehn Wochen am Leben erhalten werden? Was geschieht, wenn mit der Diät erst nach der akuten Phase der Strahlenreaktion eingesetzt wird, oder wenn sie nur einen Monat lang verabreicht wird?

3.5.3.3.1. DURCHFÜHRUNG

Zur Klärung dieser Fragen bildeten wir fünf Gruppen mit wieder jeweils zehn Tieren.

Drei Gruppen wurden mit der LD 90 (23,0 Gy) bestrahlt. Davon sollte die eine 20 Wochen und die zweite vom Bestrahlungstag an nur vier Wochen diätetisch behandelt werden; eine dritte Gruppe sollte die Diät erst ab der vierten Woche nach Bestrahlung vier Wochen lang erhalten.

Zwei weitere Gruppen wurden mit 20,0 Gy bzw. 26,0 Gy bestrahlt. Die Ernährung der Tiere erfolgte in der Weise, wie es beim Pilotversuch beschrieben ist.

Bei allen Gruppen traten etwa zehn Tage nach Bestrahlung die Symptome der akuten Strahlenreaktion auf (Blut- und Schleimbeimengungen im Kot). In der Gruppe, die langzeit-ernährt wurde, bekam eine Ratte vier Wochen nach Bestrahlung Durchfall, der durch fünftägige Gabe von Trockenfutter beseitigt werden konnte. Doch drei Wochen später mußte das Tier wegen Ileussympomen getötet werden.

Zu den vorzeitigen Verlusten gehören ferner der Spontan- oder einestieretodes aus der niedrigen Dosisgruppe einen Tag nach der Bestrahlung (Narkoseunverträglichkeit?), sowie der Darmverschlusstod einer Ratte aus der Gruppe, die erst ab der 4. Woche nach Bestrahlung auf Diät umgestellt worden war.

Das betreffende Tier wies zum Zeitpunkt der Umstellung bereits Ileussympptome auf und mußte am nächsten Tag getötet werden.

3.5.3.3.2. ERGEBNIS

Allen fünf Gruppen gemeinsam war die Tatsache, daß während der Diät mindestens 90% der Tiere überlebten. Das galt auch für eine Strahlendosis, die mehr als 10% über der LD 90 lag, sowie für eine Diätdauer von 20 Wochen. Nach Umstellung auf Normalkost kam es bei allen Gruppen zu der dosisentsprechenden Darmverschlußquote. Wenn man die mittleren Latenzzeiten nach dem Absetzen der Diät bis zum Ileus bei den einzelnen Gruppen miteinander vergleicht, fällt folgendes auf: Bei der gleichen Strahlendosis und Diätgabe vom Bestrahlungstag an wurden die Latenzzeiten mit der Dauer der Diät (d.h. mit der Zunahme des Zeitraums nach Bestrahlung) immer kürzer.

Hier eine Zusammenstellung der Daten (alle drei Gruppen waren mit 23,00 Gy bestrahlt worden):

Diätdauer	4 Wochen,	mittl.Latenzzeit	bis zum Ileus	=	39 Tg.
"	13 Wochen,	"	"	"	" = 30 "
"	20 Wochen,	"	"	"	" = 12 "

Interessant ist auch der Vergleich zweier Gruppen, die beide 4 Wochen lang Diät erhalten hatten, nur mit dem Unterschied, daß die eine Gruppe vom Bestrahlungstag an diätetisch ernährt, während die andere erst ab der 4.Woche nach Bestrahlung auf BSD 1800 umgestellt worden und daher für die Dauer der akuten Reaktion ohne Schonkost geblieben war. Die mittlere Latenzzeit nach Absetzen der Diät betrug für die erste Gruppe 39 und für die zweite 14 Tage. Offensichtlich setzte die dreiwöchige Normalkost mit ihrer höheren Belastung die

die Toleranz des Darms herab.

Die Tabelle 3.5.3.3. präsentiert von allen Gruppen Latenzzeiten, Ereignisse, die μ 200, bzw. m 200 Werte, sowie die mittlere Latenzzeit nach Absetzen der Diät. Die Abbildungen der Überlebenskurven demonstrieren eindeutig den Einfluß der Diät.

Tabelle 3.5.3.3. : Diätetische Beeinflussung, Versuchsauswertung: Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V), sowie die μ 200 bzw. m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen Gruppen. 10 Tiere je Gruppe.

Ernährung mit BSD 1800 (140 Tage), Dosis: 23,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	54	116	146	148	151	154	154	154	159	165
E	D	V	D	D	D	D	D	D	D	V
μ 200 = 148,1 m 200 = 152,5										

Mittlere Latenzzeit nach Diätende : 12,3 Tage

Ernährung mit BSD 1800 (105 Tage), Dosis: 20,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	0	131	131	135	135	139	145	151	181	354
E	V	D	D	D	D	D	D	D	V	V
μ 200 = 151,8 m 200 = 135										

Mittlere Latenzzeit nach Diätende : 33,6 Tage

Tabelle 3.5.3.3. Fortsetzung

Ernährung mit BSD 1800 (105 Tage), Dosis: 26,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	Abtötung (Histologie H)			
							7	8	9	10
t	86	119	119	121	127	127	100	115	121	128
E	D	D	V	D	D	D	H	H	H	H

$$\mu_{200} = 116,9 \quad m_{200} = 121$$

Mittlere Latenzzeit nach Diätende : 18,5 Tage

Ernährung mit BSD 1800 (28 Tage), Dosis: 23,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	49	58	59	64	71	71	73	73	73	79
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

$$\mu_{200} = 67 \quad m_{200} = 71$$

Mittlere Latenzzeit nach Diätende : 39 Tage

Ernährung mit BSD 1800 ab der 4. Woche (28 Tage lang),
Dosis: 23,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	22	50	60	60	60	63	68	68	69	76
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

$$\mu_{200} = 59,6 \quad m_{200} = 61,5$$

Mittlere Latenzzeit nach Diätende : 14,6 Tage

Überlebensrate

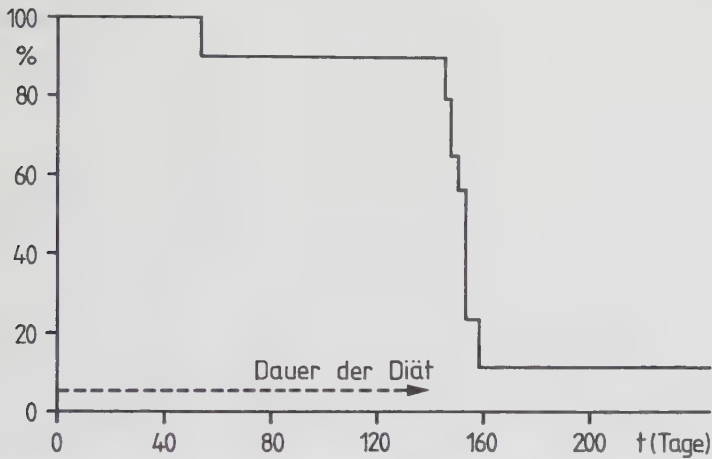


Abb. 3.5.3.3-a: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung. Ernährung mit BSD 1800 (140 Tage), 10 Tiere, Dosis: 23,0 Gy

Überlebensrate

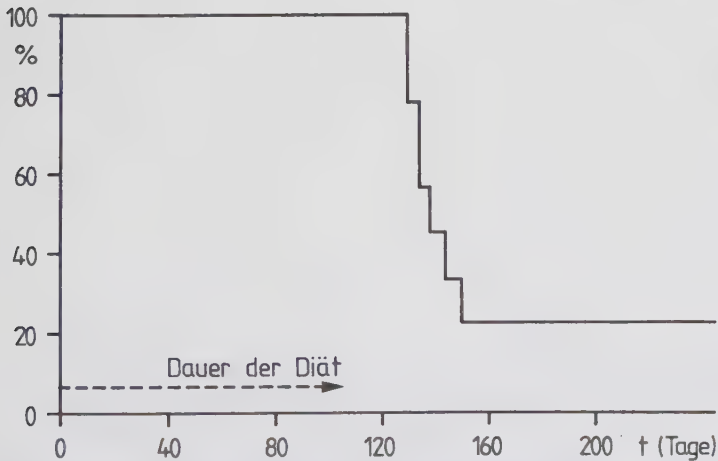


Abb. 3.5.3.3-b: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung. Ernährung mit BSD 1800 (105 Tage), 9 Tiere, Dosis: 20,0 Gy

Überlebensrate

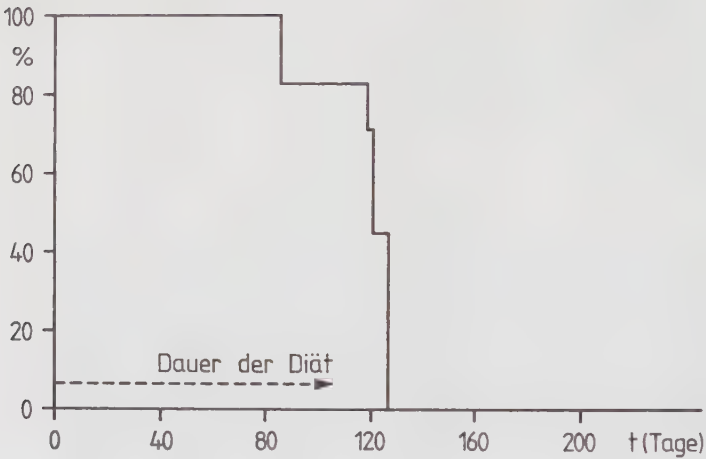


Abb. 3.5.3.3-c: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung. Ernährung mit BSD 1800 (105 Tage), 6 Tiere, Dosis: 26,0 Gy

Überlebensrate

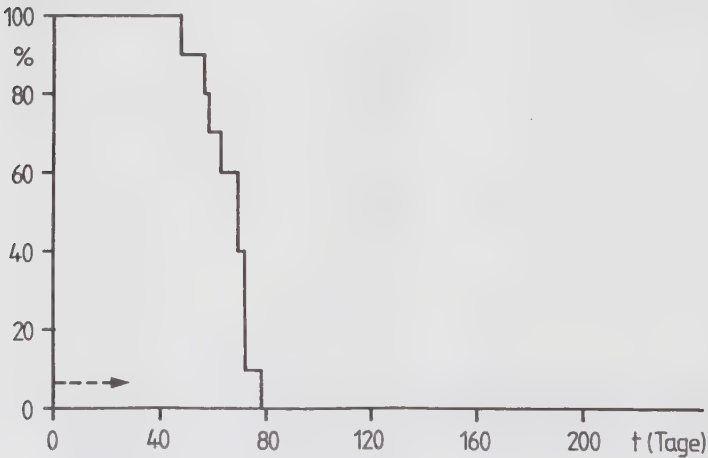


Abb. 3.5.3.3-d: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung. Ernährung mit BSD 1800 (28 Tage), 10 Tiere, Dosis: 23,0 Gy

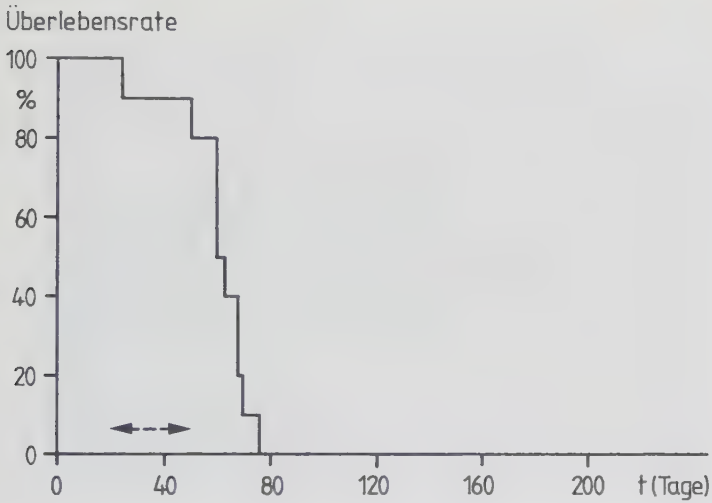


Abb. 3.5.3.3-e: Überlebenskurve, diätetische Beeinflussung.
Ernährung mit BSD 1800 ab der 4. Woche (28 Tage lang),
10 Tiere, Dosis: 23,0 Gy

3.5.3.3.3. PATHOHISTOLOGISCHE BEFUNDE.

Die histologischen Präparate von Tieren mit Ileusbefund lieferten die gewohnten Bilder von Ulzerationen sämtlicher Schweregrade. In zunehmendem Maß interessierten die Morphologie des bestrahlten Darms während der Diät und die pathologischen Veränderungen nach Umstellung auf Normalkost. Aus diesem Grund wurden von der Gruppe mit der hohen Dosis (26,0 Gy) vier Tiere getötet, was das Ergebnis nicht störte, weil bereits feststand, daß mit der Diät auch eine die LD 90 übersteigende Dosis von nahezu allen Tieren mehr als drei Monate überlebt wurde.

Die folgenden Abbildungen zeigen, daß der bestrahlte Darmabschnitt während der Diät erosionsfrei ist, wenngleich die Schleimhaut stark atrophisches Aussehen hat. Statt paralleler Kryptenanordnung treten in der Lamina propria locker verteilte regenerations Epithelinseln auf und - gegen die Ränder der Bestrahlungsfelder hin - kurze, geschlängelt verlaufende Kryptenschläuche. Die Submucosa und Subserosa sind ödematös und bindegewebig verbreitert, bei hypertrophierter Tunica muscularis. Auffällig ist, daß bei den Gefäßen zwar Wandverquellungen, aber keine Verschlüsse feststellbar sind. Innerhalb von 7 Tagen Normalkost kommt es zu Erosionserscheinungen in der Mucosa und im weiteren Verlauf zur schweren Ulzeration.

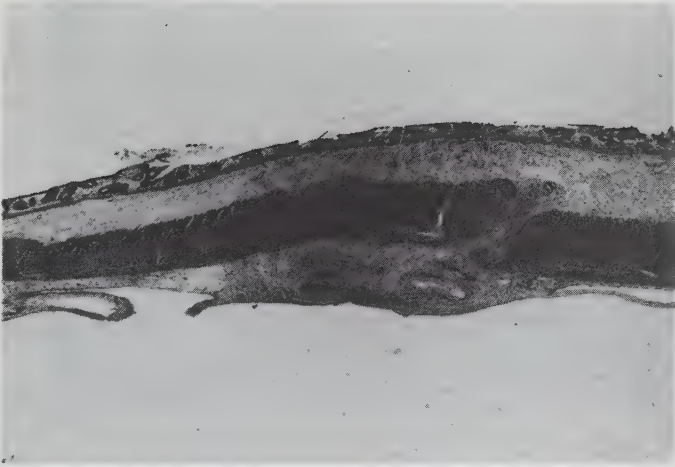


Abb. 3.5.3.3.3.-a: Rectumwand 100 Tage nach Bestrahlung mit 26,0 Gy und noch während der Diät.

Atrophische Mucosa mit kurzen, geschlängelten Kryptenschläuchen und locker verteilten regenerativen Epithelinseln. Lamina muscularis mucosae an keiner Stelle unterbrochen. Submucosa ödematös bzw. fibrös verbreitert. Pathologische Gefäßveränderungen nur im Bereich der proliferativ verdickten Subserosa. (H.-E.-Färbung, 12,5 x)



Abb. 3.5.3.3.-b: 115 Tage nach Bestrahlung mit 26,0 Gy und 7 Tage nach Wiederaufnahme der Normalkost. Breite Erosionszone mit lumennahem Granulozytensaum und Fibrinauflagerungen. Die Lamina muscularis mucosae ist unterbrochen. Regeneratorisches Epithel innerhalb der Submucosa und Tunica muscularis. (H.-E.-Färbung, 12,5 x)

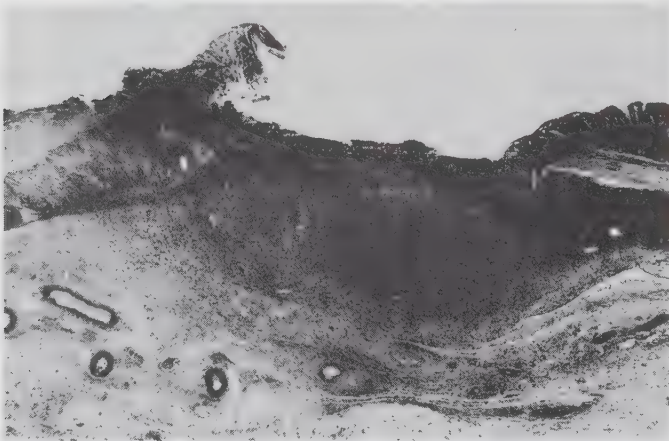


Abb. 3.5.3.3.-c: 127 Tage nach Bestrahlung mit 26,0 Gy und 18 Tage nach Wiederaufnahme der Normalkost. Schweres Ulcus mit Zerstörung sämtlicher Wandschichten. Starke subseröse Gewebsproliferation. Das Tier mußte wegen Darmverschluß getötet werden. (H.-E.-Färbung, 10 x)

3.5.3.4. HISTOLOGISCHE SERIE

Die pathologischen Veränderungen nach Absetzen der Diät und Wiederaufnahme der Normalkost wurden anhand der wenigen ausgewählten Tiere nur in groben Zügen erfaßt. Vor allem blieb der zeitliche Beginn der erosiven Veränderungen im Dunkeln. Um ein genaueres Bild zu erhalten, wurden nochmals 10 Ratten mit der LD 90 bestrahlt und sechs Wochen lang mit BSD 1800 ernährt. Zur histologischen Untersuchung wurden die Tiere serienmäßig nach Wiederaufnahme des Preßfutters abgetötet, und zwar jeweils zwei Tiere am 2., 4., 8. und 10.Tag nach Futterumstellung. Bereits am 42.Tag nach Bestrahlung und noch während der Diät wurden zwei Tiere getötet, um die Ausgangssituation beschreiben zu können. Von jedem Tier wurden bis zu 8 Längsschnittpräparate verschiedener Schnittiefen des bestrahlten Darms angefertigt. Dadurch sollten auch unauffällige, fokale Veränderungen erfaßt werden.

3.5.3.4.1. BEFUND WÄHREND DER DIÄT

Um einen Eindruck von der Auswirkung einer schlackenarmen Diät auf den unbestrahlten Darm zu erhalten, wurde von den beiden Tieren, die am 42. Tag nach Bestrahlung getötet worden waren, neben dem bestrahlten Darmabschnitt auch jeweils ein cranial, außerhalb des Bestrahlungsfeldes gelegener, etwa 2,5 cm langer Abschnitt entnommen und für die histologische Untersuchung präpariert.

Unbestrahlter Abschnitt (Abb. 3.5.3.4.-a und b):

Das Epithel fällt durch relativ kurze und eher locker angeordnete Kryptenschläuche auf. Doch stellten wir diesen Befund auch bei normalernährten, unbestrahlten Tieren fest. Als tatsächlicher Unterschied zum unbestrahlten Darm bei Normalkost muß die mindestens doppelt so hohe Mitoserate des Epithels genannt werden. Eine Vorstellung der Mitoserate läßt

sich unschwer durch die Anzahl der Mitosefiguren gewinnen. Die übrigen Zonen der Darmwand entsprechen dem Normalbefund.

Bestrahlter Abschnitt (Abb.3.5.3.4.-c): Die Kryptenschläuche sind nur halb so lang, geschlängelt oder verzweigt und haben ihre Basis nicht, wie normal, in der Nähe der Lamina muscularis mucosae, sondern eher in der Mitte der Mucosa. Lumenwärts befindet sich durchgehend eine Schicht zylindrischer Epithelzellen, welche die Kryptenmündungen verbindet. Diese liegen stellenweise weit auseinander. Das normalerweise lockere Bindegewebe der Lamina propria weist besonders in der Nähe des Lumens eine deutliche Faservermehrung auf. Und zwar vorwiegend dort, wo Krypten fehlen und lediglich eine oberflächliche Schicht kubischer oder zylindrischer Epithelzellen vorhanden ist. Diese subepitheliale Faseransammlung ist durch straffe, der Darmschleimhaut parallele, Anordnung charakterisiert. Die Submucosa ist gegenüber dem unbestrahlten Abschnitt um das fünffache verbreitert. Eine deutliche Faservermehrung ist feststellbar. Drei bis vier der dickwandigen Gefäße im Bestrahlungsbereich zeigen Intimaverdickung und Wandverquellungen, während bei den dünnwandigen und kleinen Gefäßen keine auffälligen Veränderungen erkennbar sind. Die Tunica muscularis ist etwa um das dreifache breiter, also hypertroph. Ansammlungen von Entzündungszellen können in keiner der Darmwandschichten festgestellt werden.

3.5.3.4.2. BEFUND NACH WIEDERAUFNAHME DER NORMALKOST

Anhand der Abbildungen 3.5.3.4.-d, e und f lassen sich zunächst zwei Veränderungen beschreiben. Die Länge der Kryptenschläuche nimmt ab dem zweiten Tag zu und erreicht den Wert des unbestrahlten Darms. Doch weiterhin zeigen die Krypten geschlängelten Verlauf und lockere, unregelmäßige Verteilung.

An der Submucosa kommt es ab dem 2.Tag zu einer zusätzlichen Verbreiterung, wobei diese bis zum 10.Tag konstant bleibt. Am 8.Tag nach Wiederaufnahme der Normalkost kann man am Epithel den Beginn von Erosionen erkennen. In der flachen Zellschicht, welche die Kryptenmündungen verbindet, treten Unterbrechungen auf. Die Lamina propria der Mucosa ist an diesen Stellen ungeschützt, Fibrinauflagerungen zeigen den beginnenden Entzündungsprozeß an. Diese Schäden sind zunächst eher unauffällig und fokal. So konnte bei einem Tier 10 Tage nach der Umstellung nur an einem von 8 Schnitten eine Erosion festgestellt werden. Von einer Zunahme der Anzahl veränderter Gefäße im Bestrahlungsbereich kann in diesem Zeitraum von 10 Tagen nicht gesprochen werden.

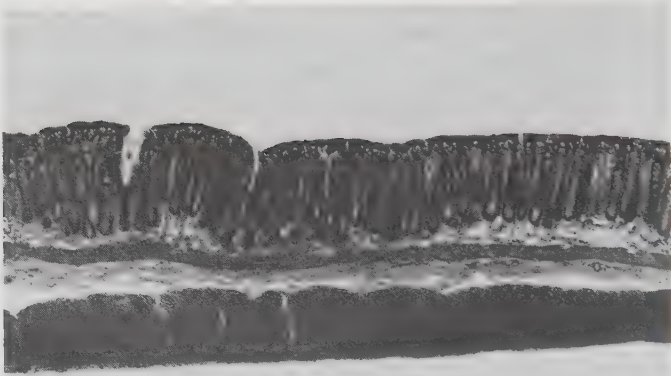


Abb. 3.5.3.4.-a: Unbestrahlter Darmabschnitt bei Normalkost. Dichte Anordnung paralleler Kryptenschläuche. (H.-E.-Färbung, 30 x)



Abb. 3.5.3.4.-b: Unbestrahlter Darmabschnitt nach 42 Tagen Diät. Kryptenschläuche etwas kürzer bei lockerer Anordnung (►). (H.-E.-Färbung, 20 x)

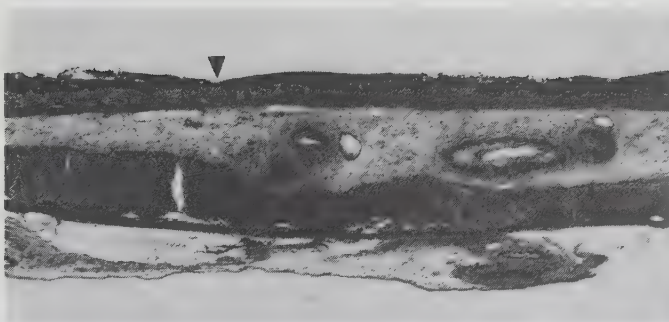


Abb. 3.5.3.4.-c: Bestrahlter Darmabschnitt nach 42 Tagen Diät. Kurze unregelmäßige Kryptenschläuche mit Basis in der Mitte der Mucosa. Im Bereich fehlender Krypten oberflächliche Lage kubischer oder zylindrischer Epithelzellen. Darunter straffe Bindegewebszüge (►). Submucosa stark verbreitert, größere Gefäße mit Wandverquellungen. (H.-E.-Färbung, 20 x)

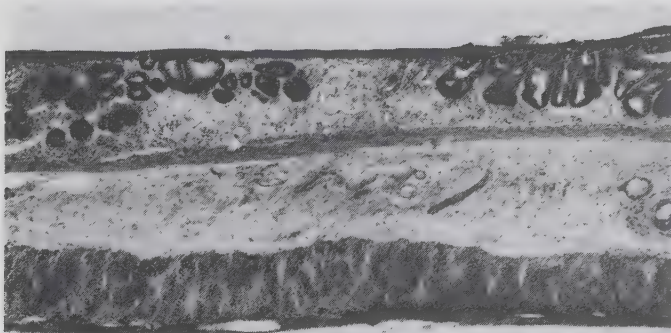


Abb. 3.5.3.4.-d: 2 Tage nach Wiederaufnahme der Normalkost. Längere Kryptenschläuche. Zusätzliche ödematöse Verbreiterung der Submucosa. (H.-E.-Färbung, 20 x)

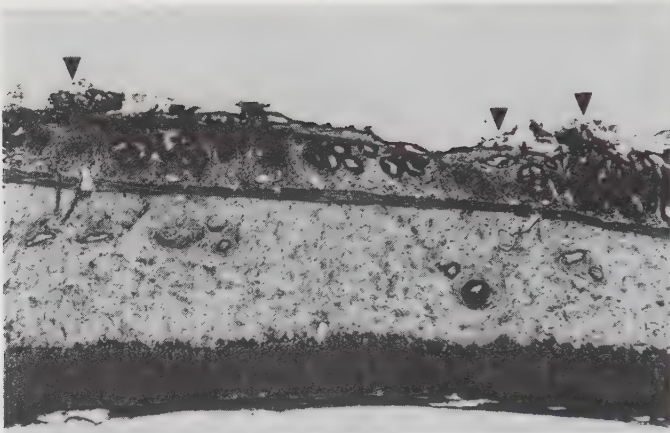


Abb. 3.5.3.4.-e: 8 Tage nach Wiederaufnahme der Normalkost. Fokale Epitheldefekte (►). (H.-E.-Färbung, 20 x)



Abb. 3.5.3.4.-f: 10 Tage nach Wiederaufnahme der Normalkost. Epitheldefekt mit Fibrinauflagerung:beginnende Erosion (►). (H.-E.-Färbung, 20 x)

3.5.3.4.3. BESTIMMUNG DER KAPILLARDICHTE INNERHALB DER LAMINA PROPRIA

Um die Ursache der unzureichenden Regeneration des Epithels im Bestrahlungsfeld aufzuhellen, wurde die Kapillardichte innerhalb der Lamina propria bestimmt. Die Kapillaren der Lamina propria sind letztendlich für den Gas- und Stoffaustausch der Epithelzellen zuständig. KISZEL (1983, Diss.) zählte bei seiner histologischen Serie den Anteil pathologisch veränderter Submucosagefäße und stellte dabei eine Dosis- sowie Zeitabhängigkeit fest. In der hier vorliegenden Serie wurden, wie beschrieben, in der Submucosa (bei durchgehendem Epithel!) pathologische Gefäßveränderungen in erster Linie an dickwandigen Gefäßen (Arterien, Arteriolen) festgestellt, während an den kleineren und dünnwandigen Gefäßen (Kapillaren und Venolen) keine auffallenden Veränderungen sichtbar waren. Die erwähnten Veränderungen an den großen Gefäßen führten jedenfalls während der Diät nicht zu einer Erosion oder gar Ulzeration der Darmwand.

Um die Kapillardichte möglichst exakt zu erfassen, wurden von den eingebetteten Darmstücken der histologischen Serie nochmals Schnitte angefertigt und an diesen eine PAS-Färbung durchgeführt. Bei dieser Färbung zeigen sich die Kapillaren weitaus deutlicher, als es eine H.-E. oder van Gieson-Färbung ermöglicht. Die Bestimmung der Kapillardichte erfolgte auf diese Weise:

Es wurden von jedem Darmschnitt zehn verschiedene Gesichtsfelder (100er Objektiv und Öl) ausgezählt. Dabei wurde darauf geachtet, daß Felder mit höherem Kryptenanteil und weniger Stroma sowie Felder mit umgekehrten Verhältnissen gleichermaßen berücksichtigt wurden.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.5.3.4.3. zusammengefaßt.

Tab. 3.5.3.4.3.: Anzahl der Kapillaren innerhalb der Lamina propria. 10 verschiedene Gesichtsfelder pro Darnschnitt ausgezählt.

Unbehandelt und normalernährt :	27	20	15	12	11	12	23	10	20	20	ø = 17
Unbehandelt und diätarnährt : (1.Tier)	10	16	20	15	15	17	13	12	8	10	ø = 13,6
" " (2.Tier)	15	14	14	15	15	15	15	15	12	12	ø = 14,5
42 Tg. n. Bestr. (23,0 Gy) u. während d. Diät : (1.Tier)	15	10	10	10	10	10	15	10	10	10	ø = 11
" " (2.Tier)	8	6	8	10	10	8	6	8	8	6	ø = 7,8
46 Tg. n. Bestr. u. 4 Tg. nach Umstellg. auf Norm.- kost :	8	8	8	9	5	8	8	8	3	8	ø = 7,8
50 Tg. n. Bestr. u. 8 Tg. nach Umstellg. auf Norm.- kost :	9	4	9	8	5	5	5	6	6	8	ø = 6,5
" " (2.Tier)	8	5	5	10	7	8	5	9	9	10	ø = 7,6
52 Tg. n. Bestr. u. 10 Tg. nach Umstellg. auf Norm.- kost :	7	5	5	6	5	6	5	7	8	7	ø = 6,1

Ergebnis: die durchschnittliche Anzahl der Propriakapillaren pro Gesichtsfeld betrug beim unbehandelten Darm 17, beim unbestrahlten, aber diät ernährten etwa 14 und beim bestrahlten etwa 8 Kapillaren. Demnach kann von einer deutlichen Abnahme der Kapillardichte im bestrahlten Darmbereich gesprochen werden. Die Dichte war um mehr als 40% reduziert. Dieser Wert blieb übrigens für die Dauer der Serie (beginnend 42 Tage nach Bestrahlung und noch während der Diät und endend 10 Tage nach der Diät) annähernd konstant.

3.5.3.5. DIÄTBEGINN BEI EINSETZENDER ILEUSSYMPТОМАТИК

In einem folgenden Experiment wurde die Frage untersucht, ob eine Diätumstellung erst zu Beginn der Ileussympтомatik, (also mehrere Wochen nach Bestrahlung) den drohenden Verschuß rückgängig machen und damit das Überleben der Tiere ermöglichen könnte. Im Kapitel 3.5.3.3. wurde über eine Behandlungsgruppe berichtet, welche die Spezialdiät erst ab dem 21.Tag nach Bestrahlung erhielt, zu einem Zeitpunkt allerdings, da, abgesehen von einer Ausnahme, keine Ratte Darmverschußsympтомatik aufwies. KISZEL (1983) erwähnt die Beobachtung, daß zwei Ratten mehrere Wochen überlebten, nachdem für Röntgenkontrastaufnahmen zu Beginn der Ileussympтомatik der Enddarm mit mehreren Microklisteinläufen entleert worden war. Zur Klärung der Frage nach einer diätetischen Beeinflussung des beginnenden Darmverschlusses wurden 10 Tiere mit 23,0 Gy bestrahlt, normal gehalten und mit dem üblichen Futter (Altromin R) ernährt. Besonders sorgfältig wurde bei ihnen die tägliche, palpatorische Kontrolle des Abdomen durchgeführt. Sobald eine Kotstauung diagnostiziert wurde (das Colon descendens war als bleistiftstarke, weiche Säule fühlbar), wurde das betreffende Tier in einen Gitterkäfig umgesetzt und ausschließlich mit

BSD 1800 ernährt. Nachdem von den ersten vier Tieren mit Ileussympomatik drei innerhalb von zehn Tagen wegen irreversiblen Darmverschlusses getötet werden mußten, änderten wir die Methode. Offensichtlich mußte zunächst die Stauung der Fäzes beseitigt werden. So verabreichten wir den folgenden 6 Tieren zu Beginn der Diät einen oder mehrere Mikroklistensteinläufe und massierten zusätzlich die Kotsäule analwärts. Bei einem Tier mußte dies an drei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt werden.

3.5.3.5.1. ERGEBNIS

Alle 6 Tiere, die einen Mikroklistensteinlauf erhalten hatten, lebten bei Diät-Ernährung wochenlang weiter. Sie setzten, der Diät entsprechende, Kotmengen ab, wobei die Kotballen länglich und nur wenige Millimeter dick waren. Bei keinem dieser Tiere trat Darmverschluß auf. Zwischen 8 und 10 Wochen nach Umstellung auf Flüssignahrung wurden die Tiere getötet und histologisch begutachtet. Die nachfolgende Tabelle beinhaltet für jedes Tier die Zeitpunkte (Tage) der beginnenden Ileussympomatik nach Bestrahlung und damit des Diätbeginns, sowie die daran anschließende Überlebenszeit (Tage) mit den jeweiligen Ereignissen (Abtötung wegen Histologie wird mit H bezeichnet):

	ohne -				mit Microklist					
Reihenfolge	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Diätbeginn	23	28	29	34	41	41	41	50	50	51
Überleben mit Diät	7	10	5	63	56	72	72	63	63	62
Ereignisse	D	D	D	H	H	H	H	H	H	H

3.5.3.5.2. HISTOLOGIE.

Die histologische Serie von KISZEL (1983) hatte gezeigt, daß zu Beginn des Darmverschlusses immer eine Ulzeration oder zumindest schwere Erosion der Darmwand vorlag. Dies ließ uns von der histologischen Untersuchung Bilder abgeheilter Ulcera erwarten.

Von den 7 Tieren, die nach Abheilung der den Verschuß einleitenden Läsionen noch bis zu zehn Wochen weitergelebt hatten, zeigt das histologische Bild bei 3 Tieren regeneriertes Epithel in der Submucosa, in einem Fall sogar innerhalb der Tunica muscularis. Dabei ist die Lamina muscularis mucosae unterbrochen. Die Gefäße der Submucosa weisen zum Teil schwerste Veränderungen (Wandverquellungen und Obliterationen) auf, das Bindegewebe ist stellenweise verquollen, in den Makrophagen finden sich Hämosiderinablagerungen. Die Tunica muscularis ist teilweise stark hypertrophiert, bzw. bindegewebig durchsetzt (siehe Abb. 3.5.3.5.2.-b,c u. d). Bei den übrigen 4 Tieren ist am Epithel eine Mitosenhäufung und eine gewisse Atrophie zu erkennen. Die Lamina muscularis mucosae ist in diesen Fällen durchgehend erhalten. In der Submucosa finden sich bei zwei der vier Tiere Gefäßschäden (siehe Abb. 3.5.3.5.2.-a).

Die Heterogenität dieser Befunde ist wohl neben der individuellen Variabilität auf die unterschiedliche Ausgangssituation zu Beginn der Diät zurückzuführen. Bei den Tieren mit Ileussyndromatik lag vermutlich teils eine oberflächliche Erosion, teils eine Ulzeration mit Zerstörung der Lamina muscularis mucosae und sämtlichen entzündlichen Begleitprozessen vor.

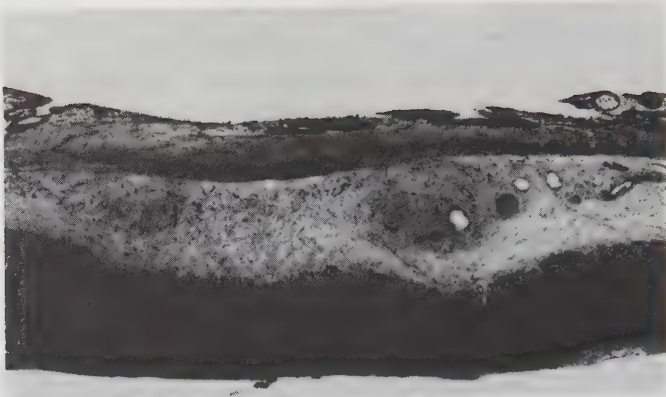


Abb.3.5.3.5.2.-a: Rectumwand 113 Tage nach Bestrahlung mit 23,0 Gy, Diätbeginn am 50.Tag: Atrophisches Epithel, starke Faservermehrung in der Lamina propria, Gefäßschäden in der verbreiterten Submucosa. (H.-E.-Färbung, 20 x)

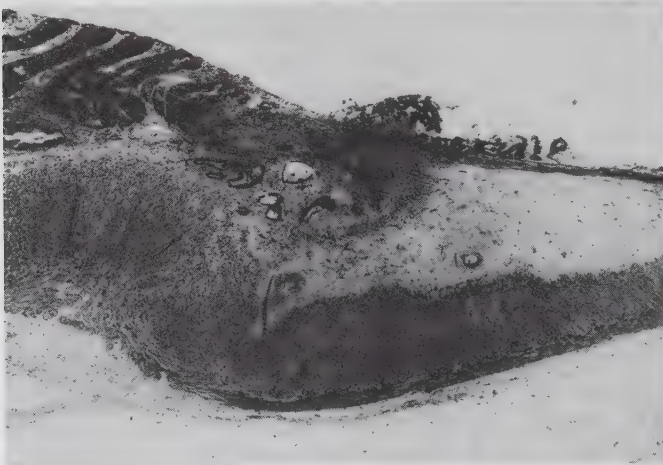


Abb.3.5.3.5.2.-b: 113 Tage nach Bestrahlung mit 23,0 Gy, Diätbeginn am 51.Tag: Regeneratorische Epithelinseln innerhalb der Submucosa, starke Hypertrophie der Tunica muscularis. (H.-E.-Färbung, 20 x)

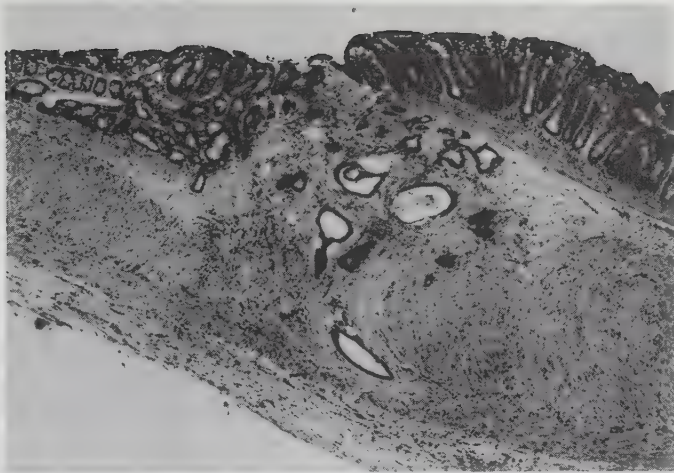


Abb.3.5.3.5.2.-c: 97 Tage nach Bestrahlung mit 23,0 Gy, Diätbeginn am 34.Tag: Regeneratorisches Epithel innerhalb der Submucosa und der Tunica muscularis, Subserosa durch Granulationsgewebe verbreitert. (H.-E.-Färbung, 20 x)



Abb.3.5.3.5.2.-d: 113 Tage nach Bestrahlung mit 23,0 Gy, Diätbeginn am 41.Tag: Hyperregeneration des Epithels mit Umstrukturierung der gesamten Darmwand. (H.-E.-Färbung, 6x)

3.6. FRAKTIONIERTE BESTRAHLUNG

3.6.1. ÜBERBLICK

Vor Beginn dieser Arbeit waren mit der externen Bestrahlungstechnik innerhalb der Arbeitsgruppe folgende Fraktionierungsexperimente durchgeführt worden:

Einzeitbestrahlung	SD	(KISZEL 1983)
2 Fraktionen, 1 Tag Intervall	2F/1d ³⁾	(HUBMANN 1981)
2 Fraktionen, 7 Tage Intervall	2F/7d	(KISZEL 1983)
2 Fraktionen, 28 Tage Intervall	2F/28d	(HUBMANN 1981)
3 Fraktionen, 3 bzw. 4 Tage Intervall	3F/7d	(GRAF 1983)
5 Fraktionen, 7 Tage Intervall	5F/28d	(KISZEL 1983)

In Fortführung dieser Experimente wurde die Anzahl der Fraktionen erhöht, um dem klinisch üblichen Fraktionierungsschema von täglich kleinen Fraktionsdosen (im Bereich von 2 Gy) nahe zu kommen. Daneben sollten Veränderungen des Intervalls und damit der Gesamtbehandlungszeit bei gleicher Fraktionenzahl zusätzliche Erkenntnisse über die Erholungsfähigkeit des Darms liefern.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden durchgeführt:

5 Fraktionen, 1 Tag Intervall	5F/4d
5 Fraktionen, 7 Tage Intervall	5F/28d
5 Fraktionen, 14 Tage Intervall	5F/56d
5 Fraktionen, 28 Tage Intervall	5F/112d
9 Fraktionen, 3 bzw. 4 Tage Intervall	9F/28d
20 Fraktionen, 1 Tag Intervall	20F/28d

³⁾ 2F/1d bedeutet zwei Fraktionen in der Gesamtbehandlungszeit von einem Tag (24 Stunden).

3.6.2. ERGEBNISSE MIT KOMMENTAR

Die Tabellen 3.6.-a bis f stellen Zeitpunkte und Art der Ereignisse (Darmverschluss oder Tod aus anderer Ursache) nach Bestrahlung, d.h. nach der letzten Fraktion zusammen. Außerdem werden die λ_{200} bzw. m_{200} Werte der Latenzzeiten aufgeführt. Die Abbildungen 3.6. a bis z zeigen die Überlebenskurven der einzelnen Fraktionierungsserien, wobei die konkurrierenden Ereignisse nach dem Grenzproduktverfahren berücksichtigt sind.

Die Dosiseffektkurven der Abbildung 3.6.1.wurden auf folgende Weise erstellt. Die experimentell gewonnenen und mittels des Grenzproduktverfahrens korrigierten Daten wurden wie bei KISZEL (1983) einer Logit-Auswertung unterzogen. Es handelt sich dabei um ein Verfahren nach PORTER (1980), wie es unsere Arbeitsgruppe zur Auswertung von Tumorheilungsexperimenten verwendet. Das Rechenprogramm liefert Daten von der LD-10 bis zur LD-90 im 10% Abstand; zusätzlich wird für den LD-50 Wert ein 90%-Vertrauensbereich angegeben.

Die S-förmigen Dosiseffektkurven sämtlicher Fraktionierungsserien sind auffallend steil (siehe Abb. 3.6.1.).

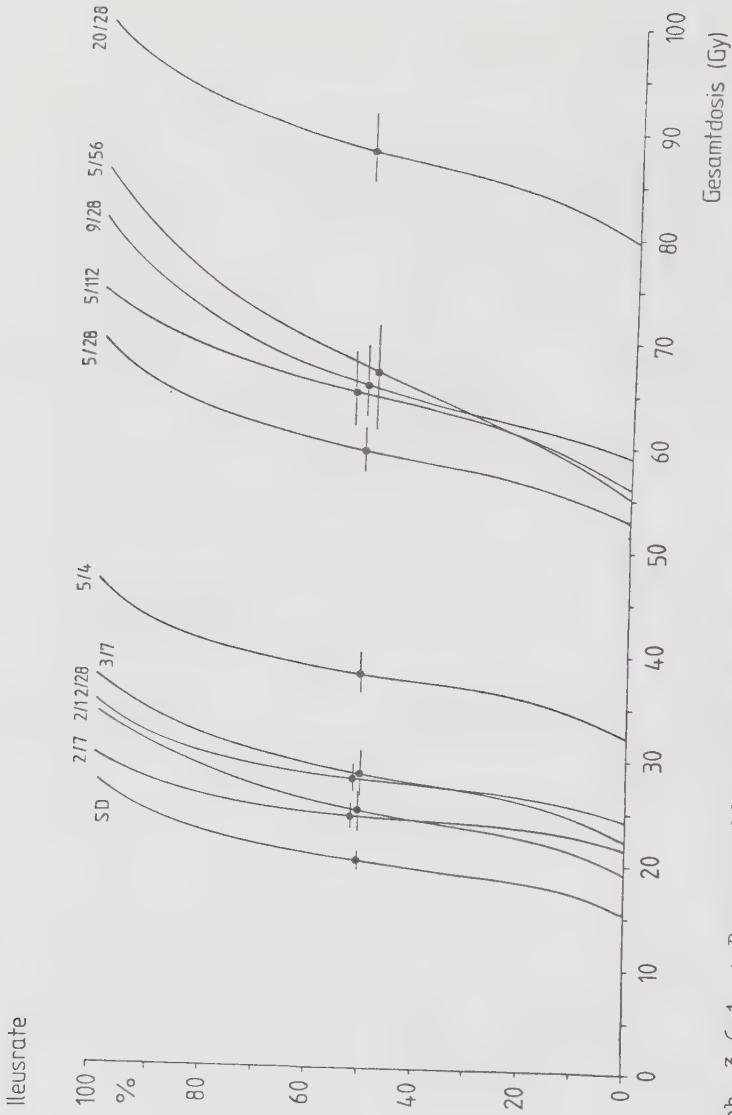


Abb. 3.6.1.: Darmverschlusßinzidenz in Abhängigkeit von der Gesamtdosis für sämtliche Fraktionierungsserien (Beobachtungszeitraum, 200 Tage). Lörtauswertung der nach dem Grenzproduktverfahren korrigierten Daten. LD-50 Werte mit Angabe des 90 % Vertrauensbereichs (SD = single dose, 2/7 = 2 Fraktionen in der Gesamtdosiszeit von 7 Tagen usw.).

Tab.3.6.-a: Fraktionierte Bestrahlung, Serie 5 F / 4 d :
5 Fraktionen, Intervall 1 Tag. Reihenfolge i und Zeitpunkte t
(Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V)
nach der letzten Fraktion, sowie die μ 200 bzw. m 200
Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen Dosisgruppen:
(10 Tiere je Gruppe)

Gesamtdosis 30,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	255	276	371	373	424	450	458	476	481	495
E	V	V	D	V	V	V	V	V	V	V

μ 200 = 200 m 200 = nicht bestimmbar

Gesamtdosis 35,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	142	206	249	290	315	337	452	472	506	512
E	D	D	V	D	V	V	V	D	V	V

μ 200 = 199,6 m 200 = 174

Gesamtdosis 40,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	12	16	23	30	47	59	73	200	252	375
E	D	D	D	D	D	V	D	V	V	V

μ 200 = 96,9 m 200 = 26,5

Gesamtdosis 45,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	17	19	19	20	24	26	26	26	39	108
E	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

μ 200 = 32,4 m 200 = 25

Tab.3.6. - b: Fraktionierte Bestrahlung, Serie 5 F / 28 d:
5 Fraktionen, Intervall 7 Tage, Reihenfolge i u. Zeitpunkte t
(Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V)
nach der letzten Fraktion sowie die μ 200 bzw. m 200
Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen Dosisgruppen:
(10 Tiere je Gruppe)

Gesamtdosis 48,50 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	72	106	119	135	158	197	200	233	246	267
E	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
μ 200 = 200						m 200 = nicht bestimmbar				

Gesamtdosis 53,35 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	98	106	151	155	197	252	260	260	267	293
E	V	V	V	V	V	V	V	D	D	V
μ 200 = 200						m 200 = nicht bestimmbar				

Gesamtdosis 59,10 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	70	73	98	99	134	136	148	154	245	261
E	D	D	V	V	V	V	D	D	V	V
μ 200 = 154,7						m 200 = 110,5				

Gesamtdosis 64,02 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	51	59	72	86	95	119	135	156	177	309
E	D	D	D	D	V	V	D	V	D	V
μ 200 = 131,8						m 200 = 79				

Tab.3.6.- c : Fraktionierte Bestrahlung, Serie 5 F / 56 d :
5 Fraktionen, Intervall 14 Tage, Reihenfolge i „Zeitpunkte t
(Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V) nach
der letzten Fraktion, sowie die μ 200 Werte der Latenz-
zeiten (Tage) für die einzelnen Dosisgruppen:
(10 Tiere je Gruppe)

Gesamtdosis 48,50 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	74	84	85	88	95	127	147	156	171	270
E	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V

μ 200 = 200 m 200 = nicht bestimmbar

Gesamtdosis 58,20 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	80	95	106	108	130	143	150	211	234	267
E	V	V	V	V	V	V	V	V	V	D

μ 200 = 200 m 200 = nicht bestimmbar

Gesamtdosis 65,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	71	93	93	93	103	111	119	139	157	188
E	V	V	V	V	V	V	D	D	V	V

μ 200 = 164,5 m 200 = 129

Gesamtdosis 67,90 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	32	54	57	76	81	99	112	133	165	233
E	D	V	V	D	V	V	D	D	D	D

μ 200 = 136,4 m 200 = 112

Gesamtdosis 75,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	63	64	70	77	85	103	126	146	152	185
E	D	D	D	V	D	V	D	V	V	V

μ 200 = 135,6 m 200 = 70

Tab.3.6. - d: Fraktionierte Bestrahlung, Serie 5 F / 112 d: 5 Fraktionen, Intervall 28 Tage, Reihenfolge i und Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E (Darmverschluss D bzw. Verlust V) nach der letzten Fraktion, sowie die μ 200 bzw. m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen Dosisgruppen:
(10 Tiere je Gruppe)

Gesamtdosis 70,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	15	28	28	33	54	65	92	97	113	185
E	D	V	V	D	V	D	V	D	D	V

$$\mu_{200} = 138,9 \quad m_{200} = 65$$

Gesamtdosis 75,50 Gy (nur 4 Frakt.bestr. = 62,00 Gy)

[illegible]

$$\mu_{200} = 33,2 \quad m_{200} = 29$$

Gesamtdosis 85,00 Gy (nur 3 Frakt.bestr. = 51,00 Gy)

[illegible]

$$\mu_{200} = 29,5 \quad m_{200} = 28,5$$

Tab.3.6. - e: Fraktionierte Bestrahlung, Serie 9 F / 28 d:
9 Fraktionen, Intervall 3 bzw. 4 Tage, Reihenfolge i und
Zeitpunkte t (Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw.
Verlust V) nach der letzten Fraktion, sowie die μ 200 bzw.
m 200 Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen
Dosisgruppen:(10 Tiere je Gruppe)

Gesamtdosis 63,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	118	123	126	149	175	198	224	228	238	243
E	V	D	D	V	V	D	D	V	V	V
μ 200 = 183					m 200 = 162					

Gesamtdosis 72,00 Gy

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t	15	23	24	81	92	108	116	151	198	223
E	D	D	D	D	D	D	D	V	V	V
μ 200 = 105,9					m 200 = 81					

Tab.3.6. - f: Fraktionierte Bestrahlung, Serie 20 F / 28 d:
20 Fraktionen, Intervall 1 Tag. Reihenfolge i u. Zeitpunkte t
(Tage) der Ereignisse E (Darmverschluß D bzw. Verlust V)
nach der letzten Fraktion, sowie die μ 200 bzw. m 200
Werte der Latenzzeiten (Tage) für die einzelnen Dosisgruppen:

Gesamtdosis 70,00 Gy, 6 Tiere

i	1	2	3	4	5	6
t	182	300	306	365	373	412
E	V	V	V	V	V	V

μ 200 = 200 m 200 = nicht bestimmbar

Gesamtdosis 76,00 Gy, 6 Tiere

i	1	2	3	4	5	6
t	187	208	238	252	289	396
E	V	V	V	V	V	V

μ 200 = 200 m 200 = nicht bestimmbar

Gesamtdosis 84,00 Gy, 9 Tiere

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9
t	133	152	157	189	217	223	230	232	256
E	V	V	D	V	V	D	D	D	V

μ 200 = 193,8 m 200 = 157

Gesamtdosis 90,00 Gy, 5 Tiere

i	1	2	3	4	5
t	69	87	110	123	154
E	D	D	D	D	V

μ 200 = 117,8 m 200 = 98,5

Tab.3.6. - f: Fortsetzung.

Gesamtdosis 96,00 Gy, 6 Tiere

i	1	2	3	4	5	6
t	10	17	48	66	88	91
E	D	D	D	D	D	D
μ 200 = 53,3 m 200 = 57						

Gesamtdosis 100,00 Gy, 6 Tiere

i	1	2	3	4	5	6
t	4	14	20	20	20	68
E	D	D	D	D	D	V
μ 200 = 43,3 m 200 = 20						

Gesamtdosis 120,00 Gy, 5 Tiere

i	1	2	3	4	5
t	11	12	19	19	27
E	D	D	D	D	D
μ 200 = 19,2 m 200 = 19					

Abb. 3.6.,a - z: Fraktionierte Bestrahlung
Überlebensrate mit oberer (----) und unterer (-.-.-) Grenze in Abhängigkeit von der Zeit t nach Bestrahlung für die einzelnen Dosisgruppen. Berechnung nach dem Grenzproduktverfahren zur Berücksichtigung konkurrierender Ereignisse. Am Ende des Beobachtungszeitraums (200 Tage) Angabe der Standardabweichung σ .

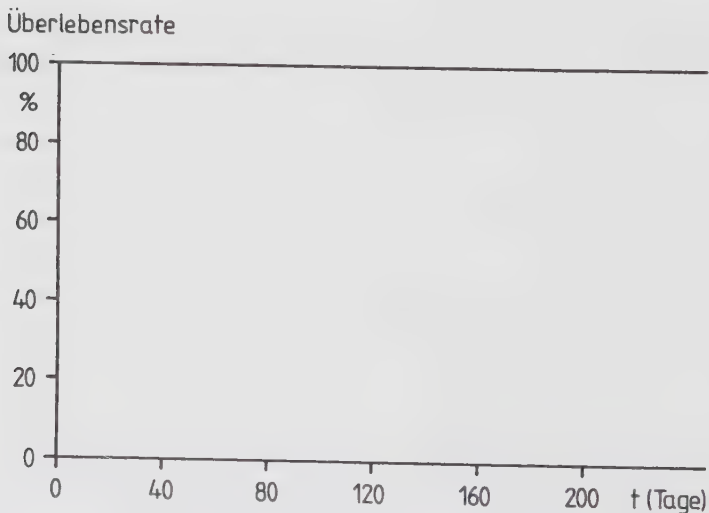


Abb. 3.6-a: Überlebenskurve Serie 5 F/4 d
Gesamtdosis: 30,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

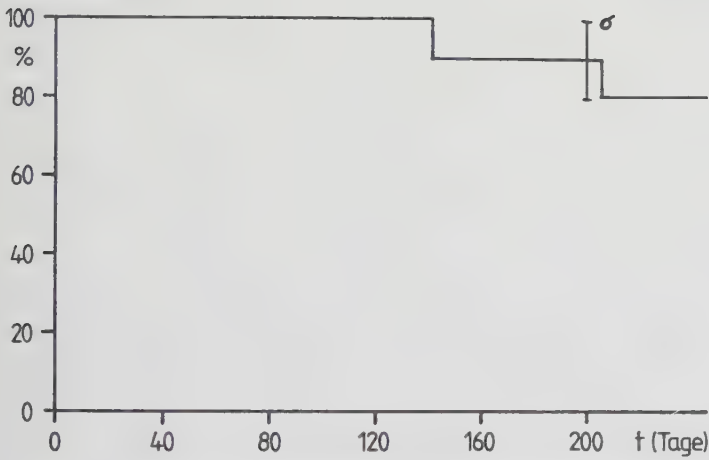


Abb. 3.6-b: Überlebenskurve Serie 5 F/4 d
Gesamtdosis: 35,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

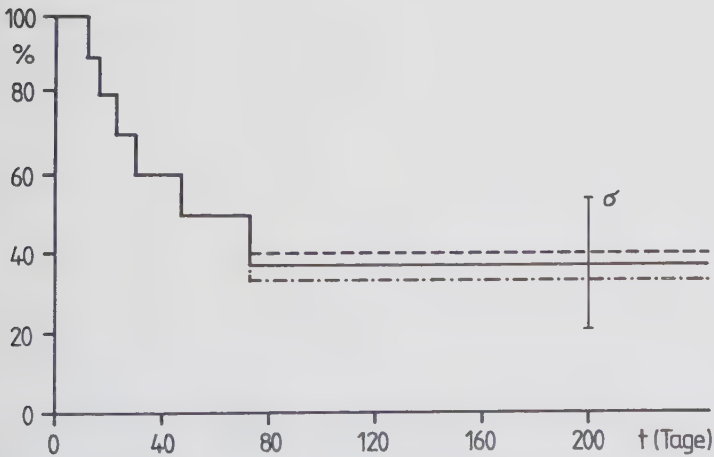


Abb. 3.6-c: Überlebenskurve Serie 5 F/4 d
Gesamtdosis: 40,00 Gy, 10 Tiere

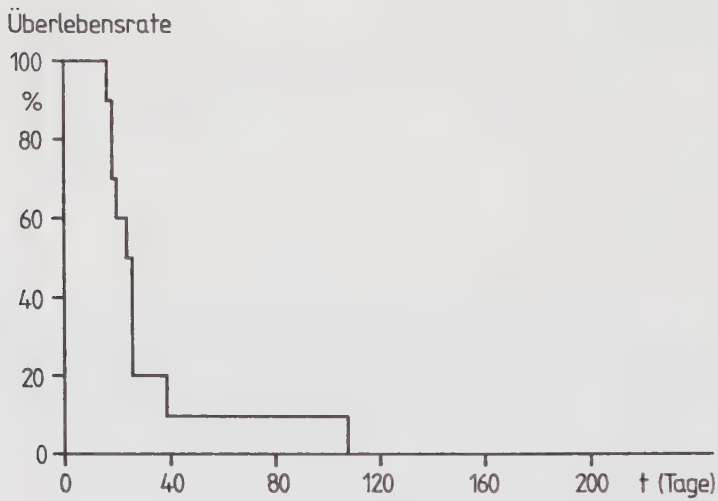


Abb. 3.6-d: Überlebenskurve Serie 5 F/4 d
Gesamtdosis: 45,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

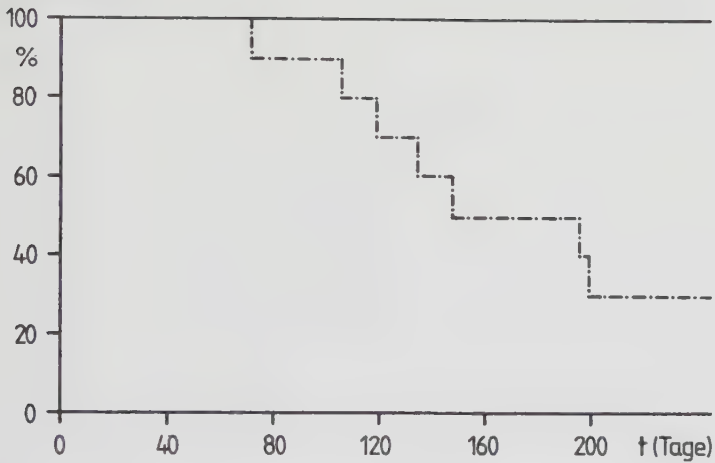


Abb. 3.6-e: Überlebenskurve Serie 5 F/28 d
Gesamtdosis: 48,50 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

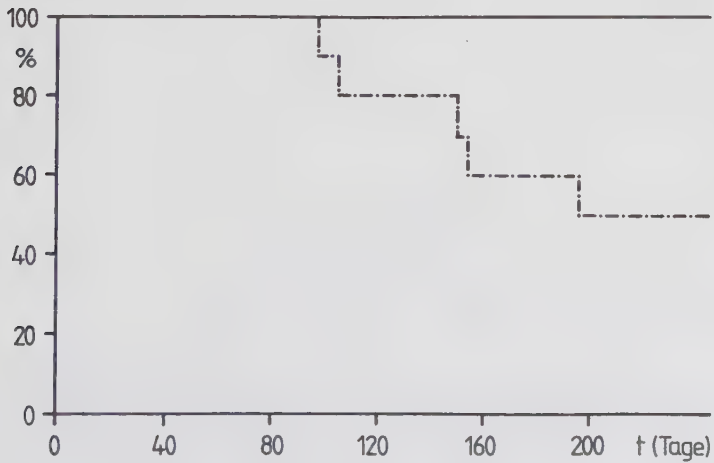


Abb. 3.6-f: Überlebenskurve Serie 5 F/28 d
Gesamtdosis 53,35 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

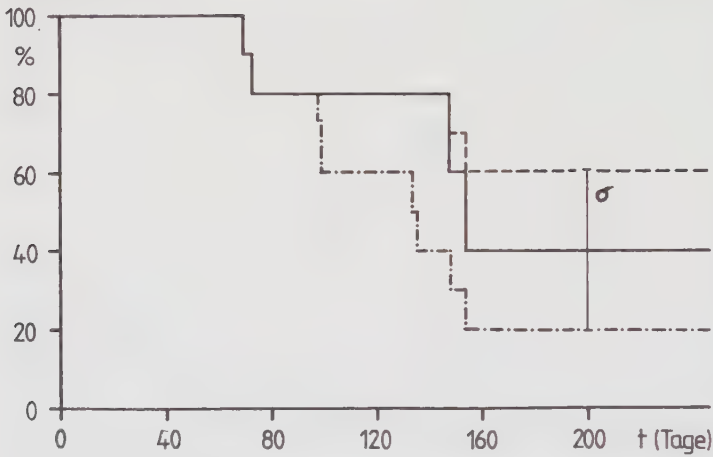


Abb. 3.6-g: Überlebenskurve Serie 5 F/28 d
Gesamtdosis: 59,10 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

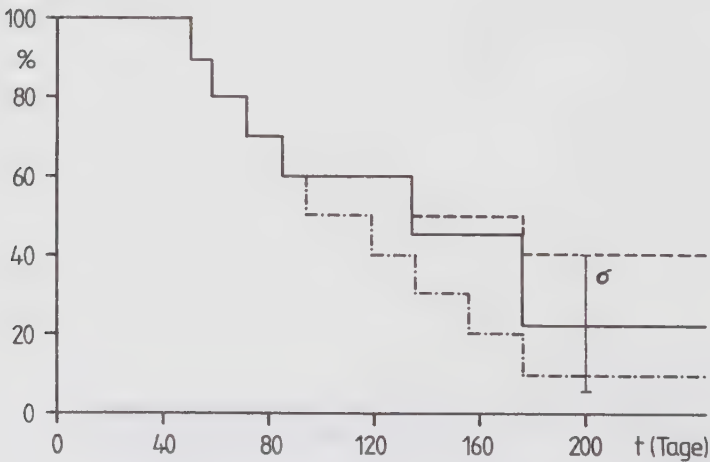


Abb. 3.6-h: Überlebenskurve Serie 5 F/28 d
Gesamtdosis: 64,02 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

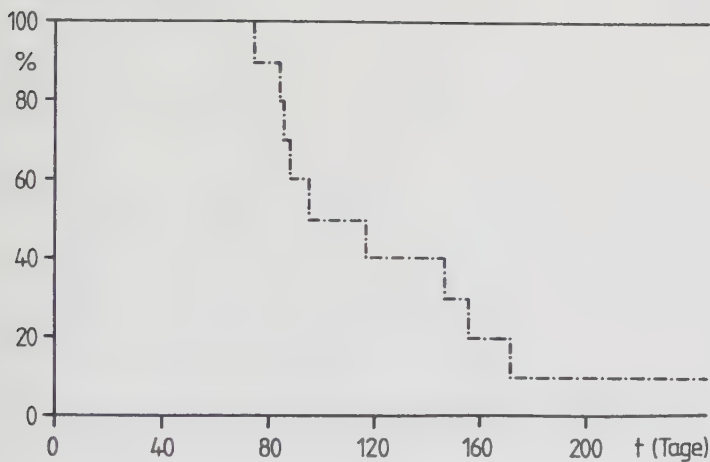


Abb. 3.6-i: Überlebenskurve Serie 5 F/56 d
Gesamtdosis: 48,50 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

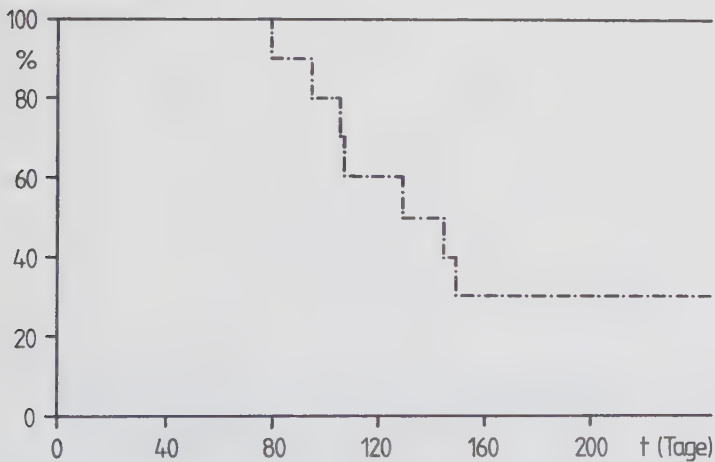


Abb. 3.6-k: Überlebenskurve Serie 5 F/56 d
Gesamtdosis: 58,20 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

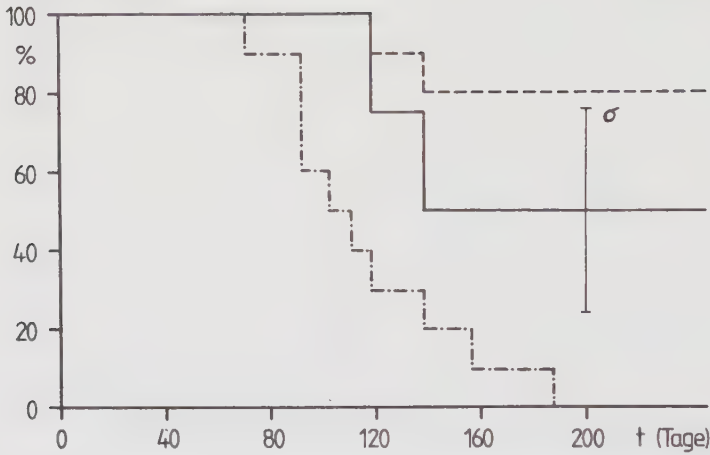


Abb. 3.6-l: Überlebenskurve Serie 5 F/56 d
Gesamtdosis: 65,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

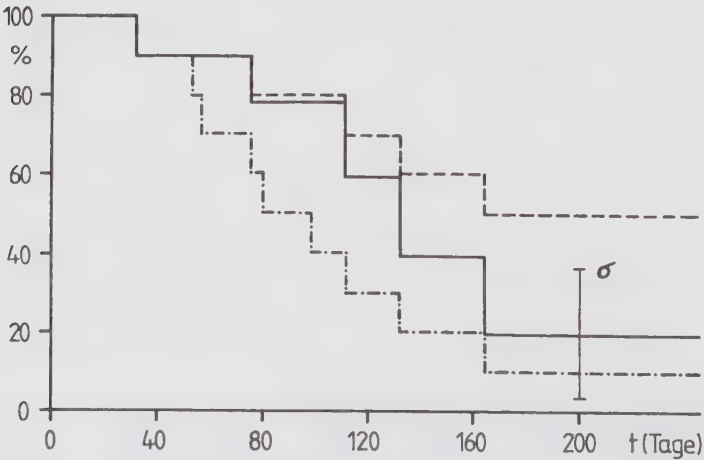


Abb. 3.6-m: Überlebenskurve Serie 5 F/56 d
Gesamtdosis: 67,90 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

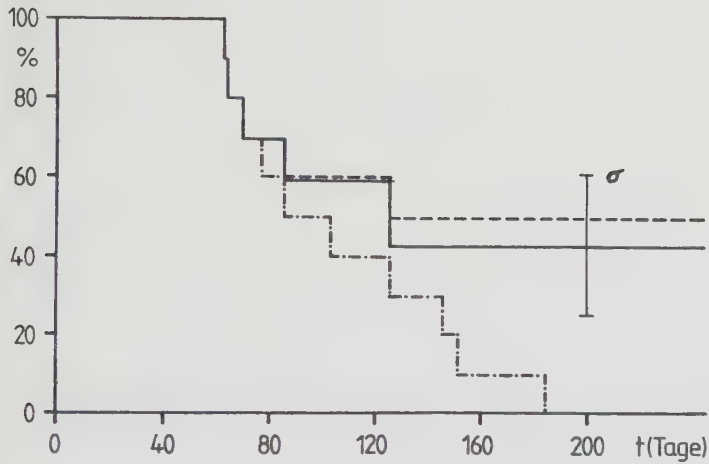


Abb. 3.6-n: Überlebenskurve Serie 5 F/56 d
Gesamtdosis: 75,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

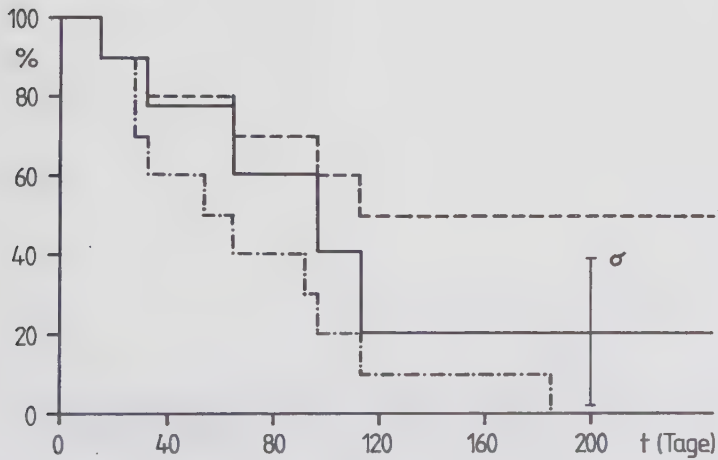


Abb. 3.6-o: Überlebenskurve Serie 5 F/112 d
Gesamtdosis: 70,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

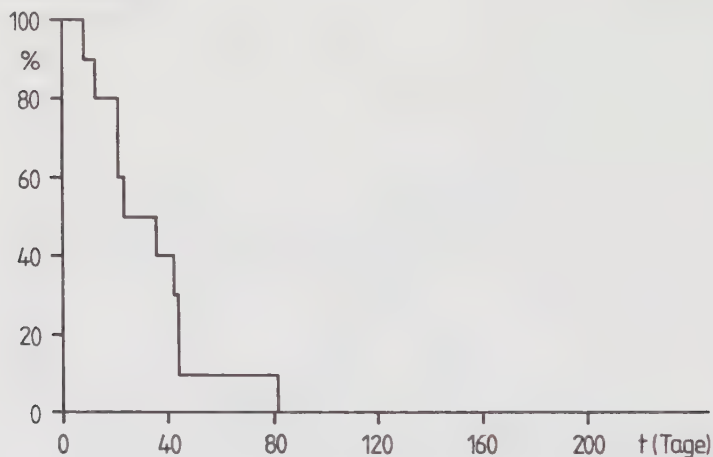


Abb. 3.6-p: Überlebenskurve Serie 5 F/112 d
Gesamtdosis: 75,50 Gy (nur 4 Fraktionen bestrahlt =62,0 Gy),
10 Tiere

Überlebensrate

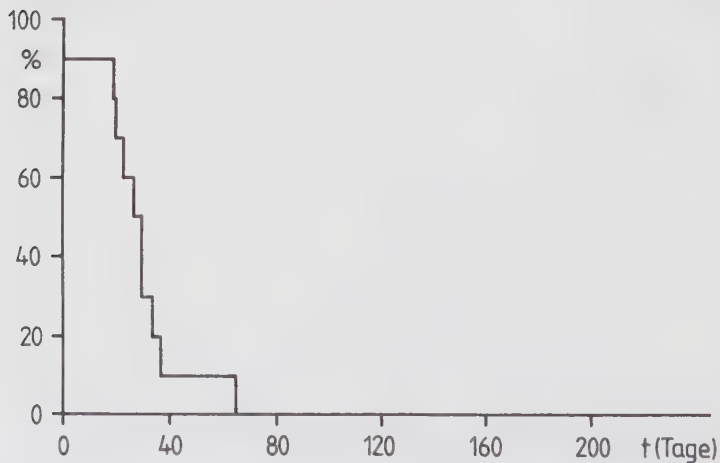


Abb. 3.6-q: Überlebenskurve Serie 5 F/112 d
Gesamtdosis: 85,00 Gy (nur 3 Fraktionen bestrahlt =51,0 Gy),
10 Tiere

Überlebensrate

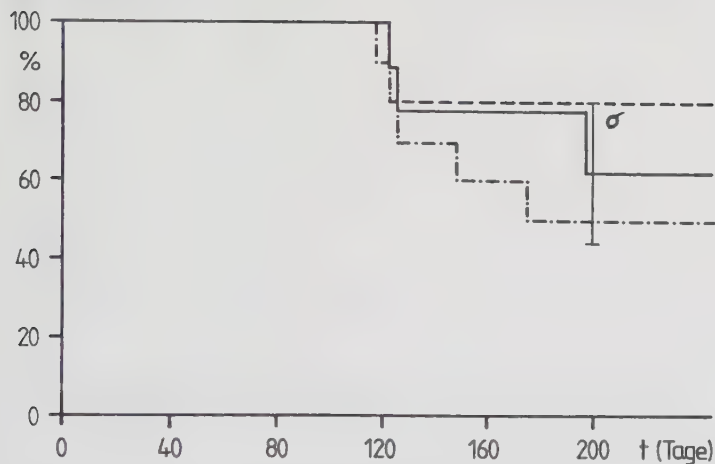


Abb. 3.6-r: Überlebenskurve Serie 9 F/28 d
Gesamtdosis: 63,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

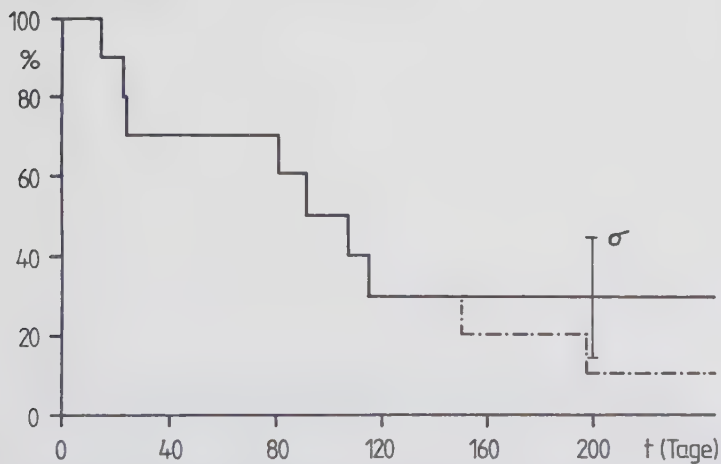


Abb. 3.6-s: Überlebenskurve Serie 9 F/28 d
Gesamtdosis: 72,00 Gy, 10 Tiere

Überlebensrate

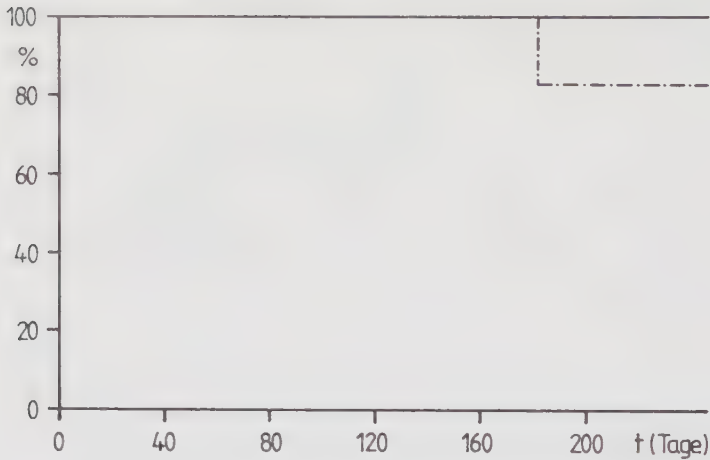


Abb. 3.6-t: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 70,00 Gy, 6 Tiere

Überlebensrate

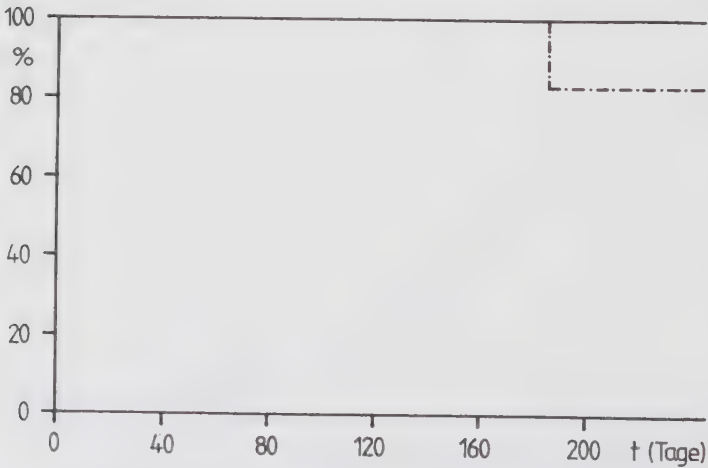


Abb. 3.6-u: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 76,00 Gy, 6 Tiere

Überlebensrate

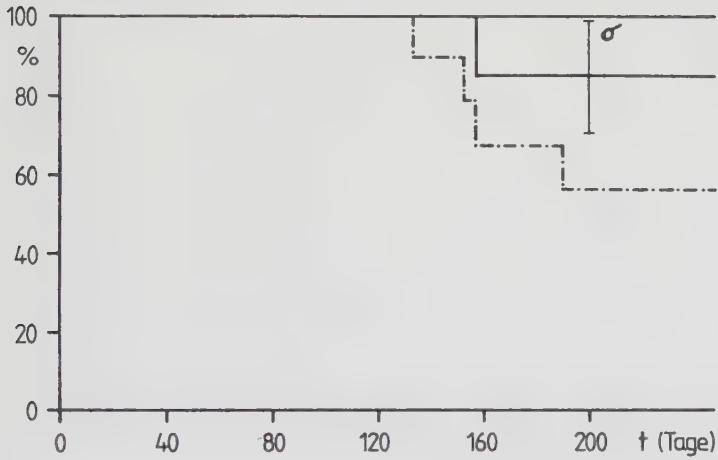


Abb. 3.6-v: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 84,00 Gy, 9 Tiere

Überlebensrate

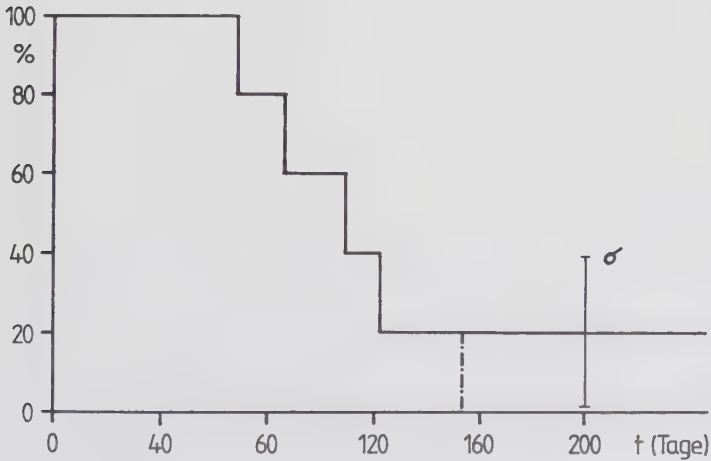


Abb. 3.6-w: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 90,00 Gy, 5 Tiere

Überlebensrate

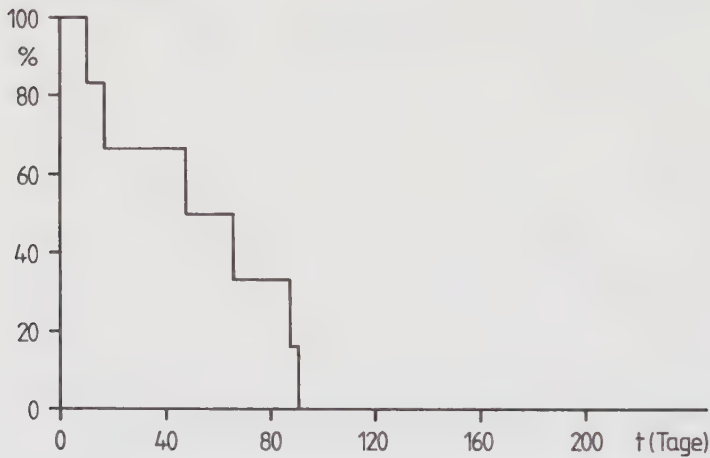


Abb. 3.6-x: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 96,00 Gy, 6 Tiere

Überlebensrate

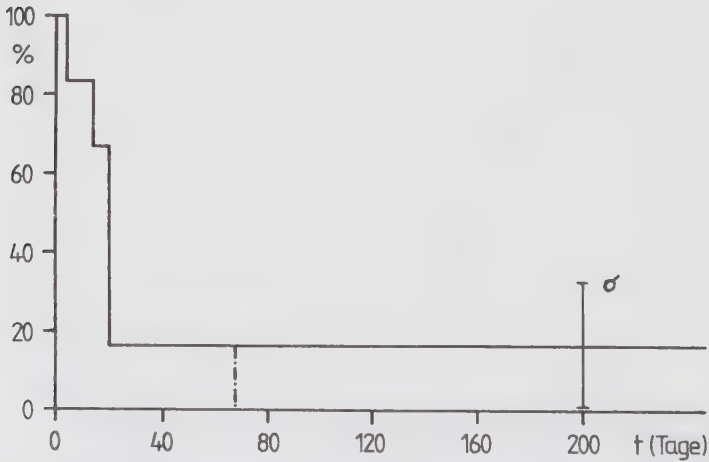


Abb. 3.6-y: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 100,00 Gy, 6 Tiere

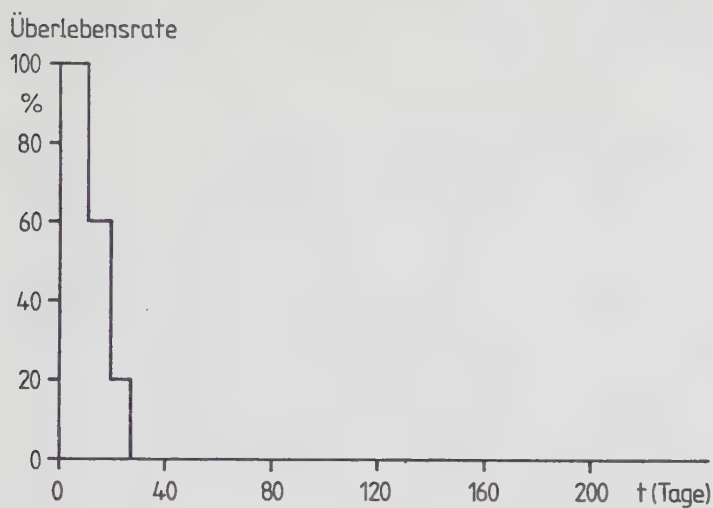


Abb. 3.6-z: Überlebenskurve Serie 20 F/28 d
Gesamtdosis: 120,00 Gy, 5 Tiere

Die folgende Tabelle vereinigt von sämtlichen Fraktionierungsexperimenten (also auch jenen von HUBMANN, KISSEL und BRAF durchgeführten) die Intervalle, die berechneten LD-50 Werte (Gy) incl. 90% Vertrauensbereich und die jeweilige Dosis pro Fraktion:

Serie	Intervall (Tage)	LD-50 (Gy)	90% Vertrauens- bereich (Gy)	Dosis/Fraktion (Gy)
SD	-	20,2	19,4 - 21,2	20,2
2 F/1d	1	25,0	23,1 - 27,0	12,5
2 F/7d	7	24,7	23,6 - 25,5	12,3
2 F/28d	28	28,0	26,8 - 29,5	14,0
3 F/7d	3 bzw. 4	28,5	26,6 - 30,8	9,5
5 F/4d	1	38,2	36,9 - 40,3	7,6
5 F/28d	7	59,2	57,3 - 61,7	11,8
5 F/56d	14	67,0	64,2 - 71,6	13,4
5 F/112d	28	64,9	61,7 - 68,6	13,0
9 F/28d	3 bzw. 4	65,7	62,8 - 69,3	7,3
20 F/28d	1	87,8	85,3 - 91,5	4,4

Aus dem bloßen Vergleich dieser Isoeffektdaten lassen sich zunächst folgende Erkenntnisse gewinnen:

Die Anzahl der Fraktionen und damit die Höhe der einzelnen Fraktion ist für die Toleranz des Darms von wesentlicher Bedeutung. Das fällt besonders nachdrücklich bei den Serien mit 1 Tag Intervall auf. Die Gesamtdosis steigt von 25,0 Gy bei zwei Fraktionen auf 38,2 Gy bei fünf Fraktionen und schließlich auf 87,8 Gy bei 20 Fraktionen, wobei die Dosis pro Fraktion von 12,5 Gy über 7,6 Gy auf 4,4 Gy fällt. Dabei werden bei der Serie 20 F/28d von der Einzeldosis (= 4,4 Gy) gemäß der von WITHERS (1975) dargestellten Betrachtung

tungsweise fast 80% erholt. Wie gravierend sich eine Änderung der Dosis pro Fraktion auswirkt, zeigt folgendes Beispiel: Die Dosis pro Fraktion ist bei der Serie 5 F/28 d nur um 0,5 Gy niedriger als bei der Serie 2 F/7d (11,8 Gy statt 12,3 Gy) für gleiches Intervall (7 Tage) und doch erhöht sich die Gesamtdosis um erstaunliche 34,5 Gy. Wenn sich dieser Befund in weiteren Experimenten bestätigen sollte, hätte er gravierende Auswirkungen auf die Praxis der klinischen Strahlentherapie, insbesondere auf die Anforderungen an die Genauigkeit der Dosierung. Die oberste Grenze der Einzeldosis bei einer fraktionierten Bestrahlung liegt bei 14,0 Gy. Wie aus der Tabelle für die Serie 5 F/112d hervorgeht, konnten die Dosisgruppen 5 x 15,5 Gy bzw. 5 x 17,0 Gy wegen vorzeitiger Verluste nicht zu Ende bestrahlt werden, obwohl das Intervall bei dieser Serie 28 Tage betrug. Die Bedeutung der Zeit bei der fraktionierten Darmbestrahlung geht besonders deutlich aus den Serien mit 5 Fraktionen hervor. Die Intervallausdehnung von 1 Tag auf 7 Tage erhöht die Gesamtdosis um 55% (59,2 Gy statt 38,2 Gy). Eine weitere Ausdehnung auf 14 Tage steigert die Gesamtdosis um weitere 13% (67,0 Gy statt 59,2 Gy), während eine nochmalige Verdopplung des Intervalls auf 28 Tage keine weitere Erhöhung bewirkt. Bei den Serien mit zwei Fraktionen hatte die Ausdehnung von 1 Tag auf 7 Tage nichts verändert, während nach nochmaliger Verlängerung auf 28 Tage die Gesamtdosis um 13% stieg (28,0 Gy statt 24,7 Gy). Dies läßt sich mit dem 16% Anstieg bei den 5 Fraktionen vergleichen, wenn das Intervall von 7 Tagen auf 28 Tage erhöht wird (68,8 Gy statt 59,2 Gy).

Die Serie 5 F/28d (Intervall 7 Tage) wurde bereits von KISZEL durchgeführt. Allerdings wurde dabei die Erholungsfähigkeit des Darms unterschätzt und die Gesamtdosen zu niedrig kalkuliert. Nur bei der höchsten Dosisgruppe mit einer Gesamtdosis von 55,0 Gy traten überhaupt vereinzelt Darmverschlüsse auf. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die

Serie mit vier weiteren Dosisgruppen komplettiert, wobei die höchste Gesamtdosis 64,02 Gy betrug. Die Logit-Auswertung ergab bei KISZEL einen LD-50-Wert von 59,7 Gy (90% Vertrauensbereich 53,5 - 80,0 Gy), die Auswertung der zusätzlichen Dosisgruppen lieferte einen nahezu gleichen LD-50-Wert = 59,2 Gy bei allerdings relativ engem Vertrauensbereich (57,3 - 61,7 Gy).

Die Durchführung der Serie 20F/28d stellte eine erhebliche Belastung der Tiere dar. Die Ratten erhielten täglich einen Mikroklistereinlauf und eine Vollnarkose über einen Zeitraum von vier Wochen (Wochenende ausgenommen). Besonders bei den höheren Dosisgruppen führte der tägliche Streß mit Abführung und Narkose und die nach zwei Wochen auftretenden akuten Strahlenreaktionen (Blut und Schleimabgänge) zu Abmagerung und sehr schlechtem Allgemeinbefinden der Tiere. Ein dadurch bedingter Einfluß auf die Latenzzeit oder Darmverschlußquote kann nicht ausgeschlossen werden. Um so eindrucksvoller ist die enorm hohe Strahlendosis, die die Tiere noch tolerierten.

In den Abbildungen 3.6.2.-a bzw. 3.6.2.-b werden die μ_{200} - bzw. m_{200} -Kurven aller Fraktionierungsserien dargestellt. Die Darstellungsweise von KISZEL (1983), bei der die Beobachtungspunkte durch Polygonzüge verbunden sind, wurde übernommen, um einen direkten Vergleich der alten und neuen Werte zu ermöglichen. Der Verlauf der μ_{200} -Kurven der neuen Serien entspricht der Steilheit und S-Förmigkeit der früheren Kurven. Die auf den Kurven mit x gekennzeichneten Stellen geben, soweit definiert, die μ_{200} -Werte bei der LD-50 (Logit) an. Die Werte liegen zwischen 114 und 160 Tagen und damit im Bereich der früheren Serien. KISZEL stellte bei der Beurteilung seiner μ_{200} -Kurven fest, daß die μ_{200} -Werte (LD-50) bei den Serien mit einem Intervall von 7 und mehr Tagen (2F/7d, 2F/28d, 5F/28d) deutlich höher lagen, als bei den Serien, wo das Intervall weniger als

7 Tage betrug. Dieser Befund bestätigt sich bei den neuen Serien nicht mehr. Die μ_{200} -Werte (LD-50) der Serien 9F/28d (Intervall 3 bzw. 4 Tage) und 20F/28d (Intervall 1 Tag) liegen im Bereich der Serien mit einem Intervall von 7 und mehr Tagen, nur der Wert der Serie 5F/4d (Intervall 1 Tag) liegt darunter. Offensichtlich ist die Länge der Gesamtbehandlungszeit für die Latenzzeiten von größerer Bedeutung als das Intervall. Vergleicht man nämlich die μ_{200} -Werte (LD-50) der Serien mit einer Gesamtbehandlungszeit von 28 Tagen und mehr (2F/28d, 5F/28d, 5F/56d, 9F/28d, 20F/28d), so fällt sofort der enge Bereich auf, in dem die Werte liegen (145 - 160 Tage). Dieser Bereich liegt 10 - 45 Tage über den Werten der übrigen Serien, bei denen die Behandlungszeit nicht länger als eine Woche betrug.

Die Kurven der Medianwerte fallen wie bei KISZEL zunächst steil ab, um dann fast waagerecht zu verlaufen (5F/4d, 5F/112d, 20F/28d). Die m_{200} -Werte (LD-50), soweit definiert, befinden sich bei den Serien mit Behandlungszeiten von 28 und mehr Tagen wieder in einem relativ engen Bereich (108 - 135 Tage), der 16 bis 65 Tage über den Werten der Serien mit kürzeren Behandlungszeiten liegt.

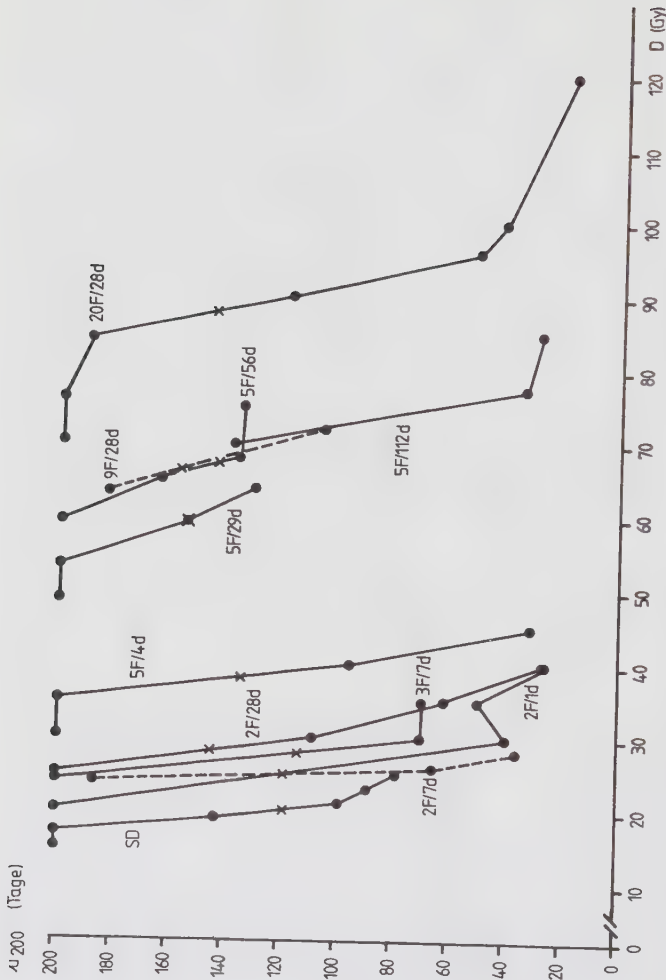


Abb. 3.6.2-a: $A/200$ - Werte in Abhängigkeit von der Gesamtdosis zur Darstellung der Latenzzeiten zwischen Bestrahlung (letzte Fraktion) und betrachtetem Ereignis Darmverschuß bei sämtlichen Fraktionierungsreihen (Beobachtungszeitraum, 200 Tage). $A/200$ (Lb-50), soweit definiert, mit x gekennzeichnet.

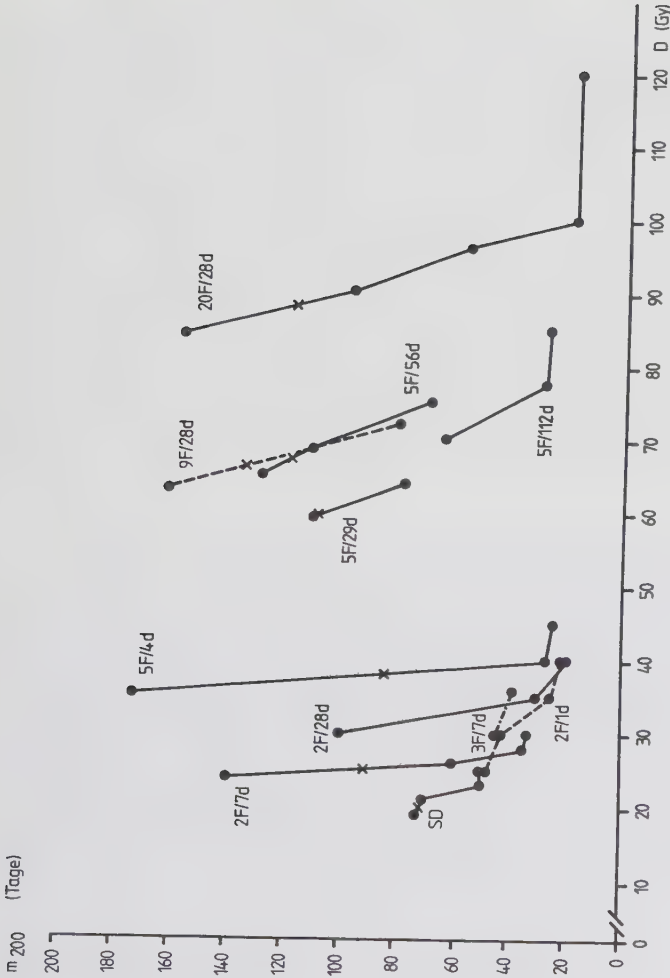


Abb. 3.6.2-b: m_{200} - Werte (Median) in Abhängigkeit von der Gesamtdosis zur Darstellung der Latenzzeiten zwischen Bestrahlung (letzte Fraktion) und beobachtetem Ereignis Darmverschluß bei sämtlichen Fraktionierungsreihen (Beobachtungszeitraum, 200 Tage). m_{200} (LD-50), soweit definiert, mit x gekennzeichnet.

3.6.3. UNTERSUCHUNG DER STRAHLENREAKTION EINES VORBE- STRAHLTEN DARMABSCHNITTS

Von GRAF (1983) war der Einfluß von Actinomycin D in Kombination mit Bestrahlung auf den Rattenenddarm untersucht worden (1982). GRAF hatte dabei das gleiche Bestrahlungsfeld verwendet, wie es bei sämtlichen Versuchen dieser Arbeit der Fall war. Er ermittelte bei seinen 3 Fraktionen in 7 Tagen eine LD-50 von 28,0 Gy wobei ein Einfluß von Actinomycin D nicht feststellbar war. Etwa ein Jahr nach seinem Kombinationsversuch waren noch 50 Ratten aus den niedrigeren Dosisgruppen (3 x 6 Gy bzw. 3 x 8 Gy) am Leben. Dabei handelte es sich um Kontrolltiere, aber auch um Tiere, die Actinomycin D erhalten hatten. Dieses uneinheitliche Ausgangsmaterial, von dem nur feststand, daß die höhere Dosis (3 x 8 Gy = 24 Gy) noch keine Darmverschlüsse verursacht, wurde gleichmäßig auf 4 Dosisgruppen verteilt und mit Einzeitdosen (14,5 Gy, 17,0 Gy, 19,5 Gy und 22,0 Gy) bestrahlt.

Ergebnis:

Bei der niedrigsten Dosis = 14,5 Gy traten keine Darmverschlüsse auf, während bei 17,0 Gy dies schon bei 75% der Tiere der Fall war. Die Latenzzeiten waren dabei wesentlich kürzer als bei den Einzeitbestrahlungen des unbestrahlten Darms. Die LD-50 dieser Wiederholungsbestrahlung liegt deutlich unter 17,0 Gy. Bei einer Annahme von 16,0 Gy bedeutet dies eine Reduzierung der LD-50 nach einmaliger Bestrahlung des gesunden Darms (= 20,2 Gy) um 4,2 Gy. Demnach war die Toleranz des mit 3 x 6 bzw. mit 3 x 8 Gy vorbestrahlten Darms ein Jahr später um 20% vermindert.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.1. THERAPEUTISCHE MASSNAHMEN

Medikamentöse Beeinflussung:

Die kombinierte Anwendung von Neomycin, Azulfidine^R und einem Glucocorticoid (Betamethason) schien zunächst vielversprechend zu sein (Versuch I). Die Latenzzeiten der so behandelten Gruppe lagen deutlich über denen der Kontrollgruppe oder der anderen Behandlungsgruppen. Einen, wenn auch weniger deutlichen Anstieg der Latenzzeit erzielte außerdem die lokale Behandlung mit einer unspezifischen "Heilsalbe". Der Versuch (II) konnte diesen Befund nicht bestätigen. Bei zwei kombiniert behandelten Gruppen trat nach der Bestrahlung mit der LD-30 bzw. LD-60 der lebensverlängernde Effekt nicht mehr auf. Die jeweilige Letalität lag sogar über der von vergleichbaren Kontrollgruppen. Der nicht reproduzierte Anstieg der Latenzzeiten im Versuch (I) läßt sich wie folgt erklären:

Die Antibiotikabehandlung im Versuch (II) wurde nur noch mit Neomycin durchgeführt, dafür aber die tägliche Dosis um 50% gesteigert. Die Latenzzeiten der Gruppe mit der alleinigen Antibiotikabehandlung im Versuch (I) waren trotz gemeinsamer Anwendung von Neomycin und Azulfidine nicht signifikant erhöht. Dieser Befund schließt wahrscheinlich aus, daß sich das Fehlen von Azulfidine^R im Versuch (II) bemerkbar gemacht hat.

Die täglich verabreichte Cortisonmenge wurde im Versuch (II) beibehalten, doch war die Applikationsweise verschieden. Die kombiniert behandelte Gruppe des Versuchs (I) erhielt die tägliche Cortisondosis noch mittels einer eingeführten 1 ml-Spritze, während bei allen später behandelten Gruppen das Medikament über eine Knopfkanüle eingegeben wurde. Der äußere Durchmesser der verwendeten 1 ml-Spritze lag bei 6,5 mm, dagegen wies die Knopfkanüle an ihrem verdickten Ende nur 3 mm auf. In der Literatur wird darauf hingewiesen,

daß Stenosen oder Strikturen des Enddarms durch wiederholte Ausweitung oder Dehnung behandelt werden können (RUBIN und CASARETT, 1968; ROSWIT, 1972). Demnach kann vermutet werden, daß die täglich eingeführte Spritze bei der kombiniert behandelten Gruppe des Versuchs (I) durch Ausdehnung des Darms im Bestrahlungsbereich stenosierende Prozesse verlangsamte und darüber hinaus wohl als Entleerungsstimulus wirkte. Bleibt noch die Frage offen, wodurch der Anstieg der Überlebenszeit bei der Gruppe mit der unspezifischen Heilsalbe (Versuch I) zustande kam. Abgesehen von tatsächlichen Einflüssen der Inhaltstoffe auf Wundheilungsvorgänge, was an Hand einer einzelnen Behandlungsgruppe nicht nachzuweisen ist, kann auf die allgemeine Eigenschaft von Salben, überhaupt als Gleitmittel zu wirken, hingewiesen werden. Dadurch können Kotballen leichter einen ulzerierten Stenoseabschnitt passieren. Warum die Anwendung des Actihaemyl-Gels nicht einen ähnlichen Effekt hatte, kann an der geringeren lubrifizierenden Eigenschaft des Gels gelegen haben. Die fehlende Wirksamkeit der Actihaemyl-Therapie am lokal bestrahlten Rattendarm überhaupt steht im Gegensatz zu den guten Erfolgen mit diesem Präparat bei der Behandlung von Strahlenreaktionen, besonders von chronischen Hautulcera (WOLFRAM 1963).

Von den zahlreichen Untersuchungen über die Bedeutung der bakteriellen Darmflora für den Strahlenschaden am Darm und über den Einfluß einer antibiotischen Therapie sei hier auf Arbeiten hingewiesen, bei denen Mittel eingesetzt wurden die mit den von uns verwendeten identisch oder zumindest vergleichbar waren.

Webster (1967) untersuchte den Effekt einer oralen Neomycin-Therapie nach Ganzkörperbestrahlung von Ratten. Die Sprague-Dawley Ratten erhielten bis zu 200 mg Neomycinsulfat täglich über eine Sonde. In einem Dosisbereich von 800 R bis 1500 R beobachtete Webster einen signifikanten Anstieg der Überlebenszeit.

ROSOFF (1963) behandelte ganzkörperbestrahlte Wistar-Ratten täglich mit 10-15 mg Neomycin über einen Zeitraum von 10-21 Tagen. In einem Dosisbereich von 325 R- 675 R überlebten die mit Neomycin behandelten Tiere Dosen, die für die Kontrolle tödlich waren. Als Ursache führte er die Abwesenheit coliformer Keime im Stuhl der behandelten Tiere an. Den Einfluß von Sulfasuxidin (einem unlöslichen Sulfonamid) auf die Strahlenreaktion des Dünndarms von Hunden untersuchte SPRATT (1961). Die Hunde, bei denen Dünndarmabschnitte von 5cm bzw. 15cm Länge nach außen verlagert und mit 4000 R bestrahlt wurden, erhielten im Anschluß daran sechs Wochen lang täglich 8 Gramm Sulfasuxidin. Diese antibiotische Behandlung führte bei den Hunden mit dem bestrahlten 15cm-Segment zu einer deutlichen Abnahme der Letalität. Sulfasuxidin konnte die Entstehung von Ulzerationen nicht verhindern, doch wiesen diese gegenüber den in unbehandelten Tieren beobachteten Ulzerationen eine schmälere Schicht nekrotischer Zellen und eine geringere Infiltration mit Entzündungszellen auf. Interessanterweise trat bei keinem der Hunde ein Verschuß auf, also auch nicht bei den Kontrollen. Bei unseren Versuchen konnte die Gabe von Neomycin und Azulfidine^R(enth. Sulfapyridin) weder die Entstehung von Ulzera noch die nachfolgenden Darmverschlüsse verhindern. Die histologischen Befunde glichen denen der Kontrolltiere weitgehend. Während die beiden zitierten Arbeiten den Einfluß des Neomycins auf das akute intestinale Strahlensyndrom bei Ganzkörperbestrahlung untersuchten, was vor allem den Dünndarm betrifft, galt unser Interesse der Verhinderung von Spätschäden am Dickdarm. Diese konnten mit den angebotenen Antibiotikamengen, welche bis zum Auftreten der Ileussyndromatik gegeben wurden, nicht beeinflusst werden. Über den klinischen Einsatz von Corticosteroiden bei der Behandlung von Strahlenfrühreaktionen der Schleimhaut des Darms bzw. der Mundhöhle berichten BESSERER (1956) und ABBE et al. (1958). BESSERER konnte durch lokale Anwendung

von Hydrocortison die Strahlenfrühreaktionen des Enddarms bei der Bestrahlung des Kollumkarzinoms erfolgreich beeinflussen. Die Symptome der akuten Strahlenproktitis, wie schmerzhaftes Darmspasmen, Stuhldrang und Schleimabgänge hörten nach Anwendung eines Verweilklysma mit Hydrocortison sehr bald auf. Die rektoskopische Untersuchung ergab, daß nach der Behandlung die akut entzündlichen Veränderungen der Schleimhaut wie Erythem und Ödem verschwunden waren. In einem Fall blieb allerdings eine leichte Rektumstenose zurück. ABBE et al. (1958) bekämpften mit lokaler Anwendung von Prednisolon erfolgreich die Schmerzsymptome der entzündeten Mundschleimhaut während und nach der Bestrahlung von Zungenkarzinomen. Allerdings wurde dadurch, abgesehen von der entzündlichen Begleitsymptomatik, der übrige Ablauf der Mucositis nicht beeinflusst.

Bei unseren Versuchen konnte eine Beeinflussung der akuten Reaktion nicht festgestellt werden. Bei den mit Cortison behandelten Gruppen traten ausnahmslos Blut- und Schleimabgänge als Zeichen des Strahlenfrühschadens auf. Daran änderte auch die Beschränkung auf 6 Behandlungstage nichts. BESSERER und ABBE warnten in ihren Veröffentlichungen davor, daß wegen einer erfolgreichen Behandlung von Frühsymptomen die Gefahr von Spätschäden unterschätzt werden könnte.

Diätetische Beeinflussung:

Die alternative Ernährung mit einer niedermolekularen ballaststofffreien Formeldiät konnte zwar die Entstehung schwerer Ulzerationen und so die Entstehung von Ileuszuständen verhindern, aber eben nur für die Dauer der Diät. Die Ratten setzten während der Diät nur noch 10-20% der normalen Kotmenge ab, wobei die sonst festen und rauen Kotballen weiche, pastöse Konsistenz erhielten. Es lag also ohne Frage eine erheblich geringere mechanische Belastung des Darms nach Bestrahlung bei den diät ernährten Tieren vor. Die Bedeutung des Darminhalts für die Entstehung von

intestinalen Strahlenschäden wurde in der strahlenbiologischen Forschung immer wieder untersucht. Besonders eindrucksvoll waren dabei Experimente, in denen der bestrahlte Darmabschnitt vom übrigen Darm getrennt wurde. FRIEDMAN (1959) z.B. versah Ratten zwei Wochen vor bzw. zur Zeit der Bestrahlung mit einem "Anus praeter", der das gesamte Colon von der Faezespassage befreite. Am bestrahlten Colon kam es im Gegensatz zu den unbehandelten Tieren zu keinen Ulzerationen, die Mucosa wies vier Wochen nach Bestrahlung lediglich atrophisches Epithel mit bizarren Formen auf. FRIEDMAN machte dafür das Ausbleiben von sekundären Schädigungsfaktoren verantwortlich. CHANDLER SMITH (1960) bestrahlte ein nach außen vorgelagertes Dünndarmsegment von Ratten. Die Tiere bekamen Durchfall und starben innerhalb einer Woche. Bei einer zweiten Gruppe wurde das gleich große Segment nach der Bestrahlung vom übrigen Darm abgetrennt, wobei die Mesenterialgefäße unangetastet blieben. Diese Gruppe bekam keinen Durchfall, ihre Mortalität entsprach der unbestrahlten, auf die gleiche Weise operierten Kontrolle. HIATT (1967) setzte am Dünndarm von Hunden 15cm-Fisteln, wodurch dieser Abschnitt vom übrigen Darm isoliert war. Nach Bestrahlung waren die pathologischen Frühveränderungen (Erosionen, Blutungen, Infiltration mit Entzündungszellen) an den isolierten Segmenten deutlich schwächer.

Bei unseren Diätversuchen ist im histologischen Bild des unbestrahlten Darms eine leichte Verkürzung der Krypten erkennbar, wobei die mitotische Aktivität der Epithelzellen deutlich gesteigert ist. Dieser Erhöhung der Umsatzgeschwindigkeit muß gerade für die Phase der Epithelregeneration nach Bestrahlung eine besondere Bedeutung zugesprochen werden. Das histologische Bild der bestrahlten Schleimhaut während der Diät ist durch unregelmäßig regeneriertes, atrophisches Epithel und durch straffe Faseranordnung im subepithelialen Bereich charakterisiert. Als Ursache für die unzureichende Stabilität des regenerierten Epithelsaums

gegenüber mechanischen Einwirkungen muß die unvollständige Wiederherstellung der Kryptenarchitektur und als Ursache dafür wiederum strahlenbedingte Gefäß- und Bindegewebsveränderungen angesehen werden. Die Bestimmung der Kapillardichte innerhalb der Lamina propria der Mucosa ergab für den bestrahlten Darmabschnitt eine deutliche Reduzierung um mehr als 40%. Dieser Befund entspricht der Feststellung von RUBIN und CASARETT (1968), daß die Bestrahlung eines Organs gewöhnlich zu einem Nettoverlust der kleinen Gefäße führt, auch wenn Regeneration der Gefäße stattfindet. Durch die geringere Kapillardichte sowie die festgestellte Faservermehrung innerhalb der Lamina propria kam es zu einer Zunahme der Diffusionsstrecken. Dies beeinträchtigte vermutlich die Versorgung der Epithelzellen und damit offensichtlich auch die Wiederherstellung der ursprünglichen Architektur. In wie weit dazu auch die erwähnten Wandschäden größerer Gefäße (vor allem innerhalb der Submucosa) beigetragen haben, kann nicht eindeutig beantwortet werden. ARENZ und OEHLERT (1969) stellten bei ihrer Untersuchung der Regeneration der Dickdarmschleimhaut von Ratten nach Lokal- und Ganzkörperbestrahlung fest, daß selbst drei Monate nach Bestrahlung mit zweimal 8,0 Gy (Ganzkörperbestrahlung) ein Differenzierungsverlust der Schleimhaut zurückbleibt, der durch eine verminderte Anzahl von Becherzellen, Abflachung der Krypten, gesteigerte mitotische Aktivität und erhöhten Zellverlust gekennzeichnet ist. Eine Steigerung der mitotischen Aktivität als typisches Merkmal einer sekundären Atrophie stellten wir am diät ernährten Tier im unbestrahlten wie im bestrahlten Darmabschnitt fest. Die Untersuchung der pathologischen Veränderungen nach Absetzen der Diät ergab, daß die Mucosa des bestrahlten Darmabschnitts innerhalb einer Woche erosive Defekte entwickelte. Offenbar war die mechanische Belastung nach Wiederaufnahme des ballaststoffreichen Normalfutters (fünffache Kotmenge, größere und derbere Kotballen) für die Schleimhaut zu groß. Bezüglich der

Instabilität der Mucosa muß auch daran gedacht werden, daß das Darmepithel einer größeren, mechanischen Belastung ausgesetzt ist, wenn die Elastizität der darunter liegenden Wandstrukturen abnimmt. Es wurde bereits auf die subepitheliale Faservermehrung und die ödematöse bzw. fibrotische Verbreiterung der Submucosa hingewiesen. Normalerweise sitzen die Darmkrypten, eingebettet in relativ lockerem Bindegewebe, einer Muskelschicht (*Lamina muscularis mucosa*) auf; dieser folgt wieder lockeres Bindegewebe (*Submucosa*) und dann erneut eine Muskelschicht (*Tunica muscularis*). Es handelt sich also durchwegs um elastische und bewegliche Strukturen.

Die Schutzwirkung von Elementardiäten bei Darmbestrahlungen wurde in den letzten Jahren besonders von BOUNOUS et al. untersucht. Die klinischen Studien (1973, 1975) ergaben, daß Patienten während der Strahlentherapie von Abdominal- oder Beckentumoren keine Diarrhoe bekamen, wenn sie in der mehrwöchigen Behandlungszeit mit einer Elementardiät ernährt wurden. PAGEAU und BOUNOUS (1977) stellten an abdominal bestrahlten Ratten, die mit Elementardiät ernährt wurden, eine Zunahme der Strahlenresistenz fest. Der strahlenprotektive Faktor lag im niedrigsten Dosisbereich (9 Gy) bei 1,12. Die diätärnährten Ratten wiesen eine höhere ^3H -TdR-Aufnahme ⁴⁾ und gesteigerte mitotische Aktivität des Darmepithels (vor allem des Dünndarms) auf. Als mögliche Ursachen für die Zunahme der Strahlenresistenz durch die Diät diskutierten PAGEAU und BOUNOUS die bessere Erholungsfähigkeit des Epithels durch vermehrte Neubildung, die reduzierte Menge an Gallensalzen und pankreatischen Proteasen, den besseren Ernährungszustand der Ratten und den geringeren abrasiven Effekt des Darminhalts infolge der fehlenden Ballaststoffe. PAGEAU (1978) untersuchte die diätische Steigerung der intestinalen Strahlenresistenz an Ratten bei fraktionierter Bestrahlung des gesamten Abdomens. Die Resistenzsteigerung war noch ausgeprägter als bei der Einzeitbestrahlung.

⁴⁾ mit Tritium markiertes Thymidin.

Mit der Elementardiät tolerierten die Ratten eine zweimal so hohe Gesamtdosis wie die Kontrolltiere.

Bei all diesen Untersuchungen über akute Strahlenfolgen fehlen allerdings Hinweise über den Einfluß der Diät auf die Entstehung chronischer Strahlenschäden. BOUNOUS (1973) stellt in einer seiner Arbeiten die Behauptung auf, der prinzipielle Effekt einer Elementardiät sei eher prophylaktisch als therapeutisch. Wenn mit der Diät erst nach der Manifestation eines Schadens begonnen würde, sei sie ineffektiv. Die Ergebnisse unserer Experimente widersprechen dieser Ansicht. Als wir mit der Diät erst nach Beginn der Ileussyptomatik einsetzten, zu einem Zeitpunkt, da zumindest eine Erosion mit ausgeprägter Entzündung vorlag, konnten wir die Tiere noch wochenlang am Leben erhalten. Das histologische Bild zeigte zum Teil gravierende Veränderungen in der Darmwand, aber stets mit durchgehendem Epithel und ohne Ansammlung von Entzündungszellen. Die Diät ermöglichte also Regenerations- und Reparaturprozesse auch in einer relativ späten Phase der intestinalen, chronischen Strahlenreaktionen. Das führte zu dem bunten histologischen Bild mit schweren Gefäßschäden und dystopischen Schleimhautregeneraten, wie sie auch bei bestrahlten Patienten häufig gesehen werden und deshalb wohl als Bild des reparierten Strahlenulcus'angesehen werden müssen.

Trotz dieses deutlichen Einflusses auf die Entwicklung chronischer Strahlenschäden am Enddarm darf die Bedeutung einer Schondiät nicht überschätzt werden.

Unsere längste Diätanwendung erstreckte sich über einen Zeitraum von 20 Wochen. Die Ergebnisse sämtlicher Diätversuche wiesen darauf hin, daß sich der Zusammenbruch des Mucosa (mit folgender Ulzeration und schließlich Darmverschluß) nach Beendigung der Diät und Wiederaufnahme des Normalfutters um so rascher ereignete, je länger der Bestrahlungstag zurücklag. Nach 20 Wochen Diät erfolgten die

Darmverschlüsse durchschnittlich fast einen Monat früher als nach vier Wochen Diät. Dies deutet auf eine zunehmende Verschlechterung der eigentlichen strahlenbedingten Darmschäden hin, wodurch bei der Einwirkung sekundär schädigender Faktoren die strahlengeschädigte Darmwand immer weniger in der Lage ist, ihre Funktion und Struktur ausreichend aufrecht zu halten.

Für einen Diätbeginn zu einem frühen Zeitpunkt nach Bestrahlung spricht das Ergebnis jener beiden Gruppen, deren Diätdauer zwar gleich lang (4 Wochen) war, aber zu unterschiedlichen Zeitpunkten einsetzte. Die Gruppe, die zunächst drei Wochen lang nach Bestrahlung mit Normalkost ernährt worden war, zeigte die Ileussympomatik zu erheblich früheren Zeitpunkten als jene Gruppe, welche BSD 1800 vom Bestrahlungstag an erhalten hatte. Offensichtlich waren die pathologischen Veränderungen während der drei Wochen mit Normalkost (eine Phase, in der Untergang und Regeneration des Epithels stattfand) gravierender als bei der anderen Gruppe und darüber hinaus von bleibendem Charakter. Dabei kann auch nicht ausgeschlossen werden, daß die Steigerung der mitotischen Aktivität im Darmepithel durch die Elementardiät den Ablauf der Regeneration beschleunigt und so die Heilungsprozesse förderte.

Ungeachtet der offen gebliebenen Frage, ob eine unbefristete Formeldiät ernährung vom Bestrahlungstag an das Auftreten schwerer chronischer Darmschäden auf Dauer sicher verhindern kann, schränkt sich ein derartiger Vorschlag an die klinische Praxis von vornherein dadurch ein, daß die hohen Kosten von Elementardiäten eine Daueranwendung unmöglich machen. Außerdem würde eine unbegrenzte Diätdauer, von eventuellen Nebenwirkungen abgesehen, das Leben der Betroffenen sehr beeinträchtigen. Dennoch liegt auf Grund der Ergebnisse dieser Arbeit die Empfehlung nahe, dem Patienten während und nach der Strahlentherapie eines Tumors im Bauch- und Beckenbereich möglichst schlackenarme Kost zu verabreichen.

4.2. FRAKTIONIERTE BESTRAHLUNG

4.2.1. DIE "4 R" DER STRAHLENTHERAPIE

Bei der fraktionierten Bestrahlung von Geweben treten im wesentlichen vier Prozesse auf, die von WITHERS (1970) als die "4 R" der Strahlentherapie klassifiziert wurden. Dabei handelt es sich um die Reparatur des subletalen Strahlenschadens, die Regeneration von Überlebenden oder eingewanderten Zellen, die Redistribution (Neuverteilung) der Zellen in den verschiedenen strahlenempfindlichen Zellzyklusphasen und die Reoxygenierung von hypoxischen Zellen.

Im folgenden werden die Ergebnisse der fraktionierten externen Darmbestrahlung besprochen und dabei die Rolle der "4 R" für das Zustandekommen des jeweiligen Ergebnisses untersucht.

Die Reparatur des subletalen Strahlenschadens wurde zum ersten Mal von ELKIND und SUTTON (1960) an Säugetierzellen in vivo beschrieben. Auf Grund dieses Phänomens wird bei den meisten Säugetierzellen die volle Effizienz der Bestrahlung erst ab einer bestimmten Dosishöhe erreicht, was sich bei einer halblogarithmischen Darstellung der Dosiseffektkurve durch einen schulterförmigen Anfangsteil der Kurve ausdrückt. ELKIND konnte in seinem Experiment durch Aufteilung der Dosis in zwei Fraktionen, wobei die 1. Fraktion groß genug war, die Zellüberlebensrate in den exponentiellen Teil der Kurve zu senken, die "Schulter" wiederholen und somit die gleicheffektive Gesamtdosis entsprechend steigern. Der zeitliche Abstand zwischen den Fraktionen betrug wenige Stunden. Inzwischen wurde anhand zahlreicher Experimente festgestellt, daß bei den meisten Geweben der die Dosiserhöhung bewirkende Reparaturprozeß innerhalb von drei Stunden abläuft. KISZEL (1983) zeigte bei der Analyse seiner Experimente, daß die Einzeldosis des 2-Fraktionenexperiments = 12,5 Gy bereits im exponentiellen Teil der Dosis-

effektkurve liegt, in einem Bereich, wo die erholte Dosis pro Fraktion einen konstanten Wert hat, also nicht mehr wie im Schulterbereich von der Dosis pro Fraktion abhängig ist (WITHERS, 1975). Die Abhängigkeit der erholten Dosis pro Fraktion von der Dosis pro Fraktion ist für verschiedene Gewebe und Tumore in der Abb. 4.2.1 -a (TROTT, 1982) aufgetragen. In diese Darstellung wurden die Daten der Serien 2 F/ 1 d, 3 F/ 7 d und 5 F/ 4 d mit aufgenommen.

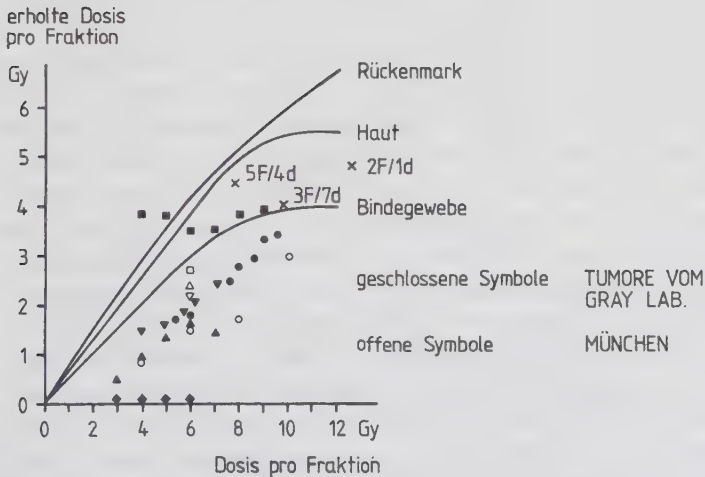


Abb. 4.2.1 -a: Erholung vom subletalen Strahlenschaden. Erholte Dosis pro Fraktion in Abhängigkeit von der Dosis pro Fraktion für verschiedene Normalgewebe und Tier-Tumore (TROTT, 1982). In die Darstellung wurden die Werte von drei Serien (2 F/1 d, 3 F/7 d, 5 F/4 d) der fraktionierten Darmbestrahlung aufgenommen (x).

Die Werte der Darmbestrahlung liegen zwischen denen für die akute Hautreaktion und denen für die Reaktion des Gefäßbindegewebes und zeigen keine Dosisabhängigkeit, d.h. bereits bei einer Dosis von 8 Gy befinden wir uns im exponentiellen Teil der zellulären Dosiseffektkurve. Die Daten der übrigen neuen Serien blieben unberücksichtigt, weil bei ihnen auf Grund längerer Intervalle oder Gesamtzeiten neben der Reparatur des subletalen Strahlenschadens andere Prozesse wirksam waren, was aus dem Folgenden hervorgehen soll.

Sowohl Tumor- als auch Normalgewebe reagieren auf den Zellverlust, den eine mehrwöchige fraktionierte Strahlentherapie verursacht, mit Zellneubildung aus überlebenden oder eingewanderten Stammzellen (WITHERS 1975, TROTT 1982), wobei sowohl der Beginn der Regeneration als auch ihre Rate vom üblichen Proliferationsverhalten des Gewebes abhängen kann. So zeigen langsam proliferierende Gewebe (z.B. Gefäßbindegewebe oder ZNS) während der Strahlentherapie wenig Regeneration, wogegen rasch und dauernd proliferierende Gewebe (z.B. Knochenmark und Mucosa- bzw. Hautepithel) den Zellverlust noch im Verlauf der mehrwöchigen Behandlung durch Repopulierung ausgleichen. Wie dabei die Regenerationsrate mit Andauer der Behandlungszeit zunimmt, zeigen Fraktionierungsexperimente von WITHERS und MASON (1974) an der Colonmucosa von Mäusen. WITHERS und MASON verwendeten drei verschiedene Intervalle (3 Std., 12 Std., 24 Std.) und gaben bis zu 10 Fraktionen. Ihre Isoeffektdosis stellt das Überleben von 50 Mucosastammzellen pro Darmquerschnitt dar. Die Abbildung (4.2.1. -b) demonstriert eindrücklich das Regenerationsphänomen. In der doppellogarithmischen Darstellung von Gesamtdosis (Isoeffekt) gegenüber Fraktionenanzahl beginnen die Kurven mit den längeren Intervallen nach der zweiten Fraktion von der Kurve mit dem kurzen, dreistündigen Intervall abzuweichen. Das dreistündige Intervall läßt nahezu keine Regeneration zu; das Ansteigen dieser

Kurve wird daher von der Erholung vom subletalen Strahlenschaden bestimmt. Der Zuwachs der Gesamtdosis bei 10 Fraktionen bei Erhöhung des Intervalls von 3 Stunden auf 24 Stunden und der Behandlungszeit von 27 Stunden auf 9 Tage beträgt beachtliche 18,5 Gy, das sind mehr als 60% der Gesamtdosis bei dreistündigem Intervall. Diesen Zuwachs sprachen WITHERS und MASON der Regeneration zu, die sich im Verlauf der neun Tage beschleunigte, was man daran ablesen kann, daß die Kurven immer weiter auseinanderstreben.

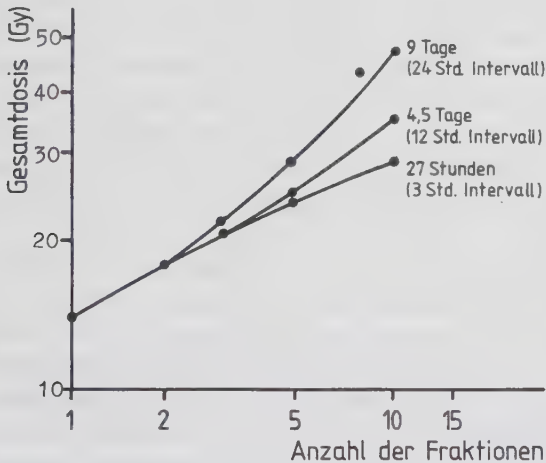


Abb. 4.2.1 -b: Einfluß der Regeneration bei Verlängerung des Intervalls und zunehmender Gesamtbehandlungszeit. Fraktionierungsexperimente an der Colonmucosa von Mäusen in doppellogarithmischer Darstellung (WITHERS u. MASON, 1974)

Bei dem Darmverschlußgeschehen unserer Experimente sind die Verhältnisse komplizierter. Die Regeneration des Epithels, das zu den rasch proliferierenden Geweben gehört, ist für die Ulcusentstehung von großer Bedeutung, wie KISZEL (1983) an seiner histologischen Serie gezeigt hatte. Der Diätversuch der vorliegenden Arbeit bestätigte dies. Doch müssen die Reaktionen des Epithels (Abbau und Regeneration) immer im Zusammenhang mit den gleichzeitig ablaufenden Prozessen des Gefäßbindegewebes in der Darmwand gesehen werden. Inwieweit diese Prozesse für einen eventuellen, regenerationsbedingten Anstieg der Toleranzdosis während der Behandlungszeit in Frage kommen, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Der Einfluß der Schleimhautregeneration auf das Ulcusgeschehen ist aber begrenzt, was besonders deutlich wird bei den Ergebnissen der Serien mit 5 Fraktionen, wo eine zusätzliche Steigerung des Intervalls von 14 Tagen auf 28 Tage mit einer 8-wöchigen Verlängerung der Gesamtbehandlungszeit zu keinem Zuwachs der Toleranz geführt hatte.

In der Abbildung (4.2.1 -c) soll in der von WITHERS (1974) verwendeten doppellogarithmischen Weise der Einfluß der Regeneration bei unseren Fraktionierungsexperimenten dargestellt werden. Der flachsten Kurve liegen die Ergebnisse der Serien mit kurzem Intervall und kurzer Gesamtzeit zu Grunde (2 F/1 d, 5 F/4 d). Sie repräsentiert also einen von Regenerationsvorgängen kaum beeinflussten Zuwachs der Toleranzdosis bei steigender Fraktionenzahl. Der Wert der Serie 20 F/28 d (87,8 Gy) ist, wie die beiden anderen gleicher Gesamtzeit (2 F/28 d, 5 F/28 d), mit Sicherheit durch Regenerationsvorgänge modifiziert. Wie hoch dieser Anteil ist, kann durch einen Vergleich der Daten geschätzt werden. Der regenerationsbedingte Anteil der Dosissteigerung gegenüber der Einzeitbestrahlung beträgt bei der Serie 2 F/28 d 37%, bei der Serie 5 F/28 d 54% (21 Gy von 39 Gy), bei den 10 Fraktionen in 9 Tagen von WITHERS

ebenfalls 54%. Setzt man auf Grund dieser Daten bei der Serie 20 F/28 d den regeneratorischen Anteil bei 50% an, erhält man eine von Regenerationsvorgängen unbeeinflusste Gesamtdosis von 54,0 Gy.

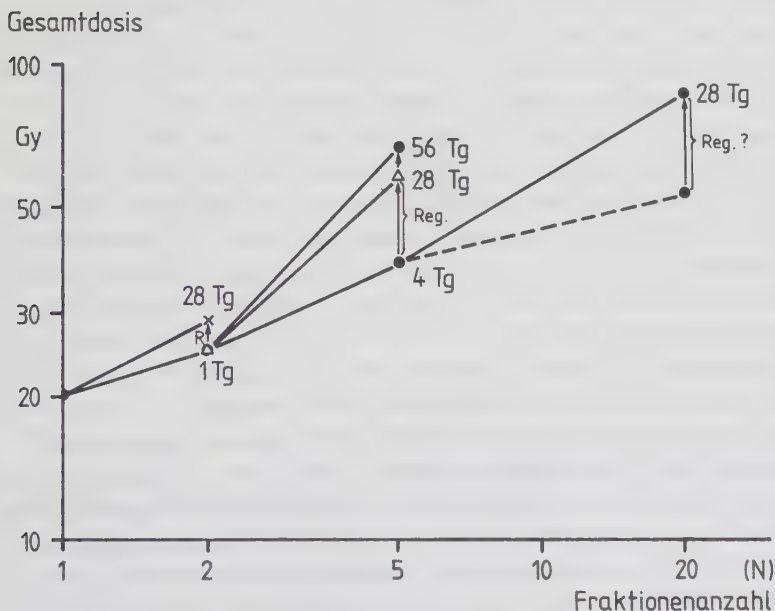


Abb. 4.2.1 - c: Einfluß der Regeneration bei Verlängerung des Intervalls und zunehmender Gesamtbehandlungszeit. Eigene Fraktionierungsergebnisse in doppellogarithmischer Darstellung mit Angabe der Gesamtbehandlungszeit und des regenerationsbedingt bedingten Anstiegs der Gesamtdosis.

Der Einfluß der Regeneration und ihre Veränderung während der Behandlungszeit ist am deutlichsten an den Ergebnissen der Serien mit 5 Fraktionen ablesbar. Eine Verlängerung des Intervalls von 1 Tag auf 7 Tage, wobei die Gesamtzeit von 4 Tage auf 28 Tage steigt, läßt die Gesamtdosis um beacht-

liche 21,0 Gy (59,2 Gy statt 38,2 Gy) anwachsen. Die Verdoppelung von Intervall und Gesamtzeit auf 14 bzw. 56 Tage bewirkt nur noch einen Zuwachs von 7,8 Gy und eine weitere Verdoppelung der Zeit keine Steigerung mehr. Man kann also sagen, daß das Regenerationsmaximum in der Zeit zwischen 4 und 28 Tagen Behandlungszeit liegt und dann relativ rasch abnimmt. KISZEL stellt bei seiner histologischen Serie im niedrigen Dosisbereich (14,0 Gy) fest, daß die Regeneration des Epithels sich am 9.Tag nach Bestrahlung bemerkbar macht und am 21.Tag weitgehend abgeschlossen ist. Die Fraktionsdosen der Serien mit 5 Fraktionen lagen zwischen 7,6 Gy und 13,8 Gy, bei Intervalllängen von 1 bis 28 Tagen. Die enorme Bedeutung der Regeneration bei längeren Behandlungszeiten für die Toleranz des Colon wird durch folgende Betrachtung deutlich. Die Serie 5 F/ 56 d zeigt gegenüber der Einzeitbestrahlung einen LD - 50 Anstieg von 46,8 Gy. Der durch Regeneration bestimmte Anteil läßt sich durch den Unterschied der LD - 50 Werte der Serien 5 F/ 56 d und 5 F/ 4 d = 28,8 Gy abschätzen. Bei der Serie 5 F/ 4 d spielten Regenerationsvorgänge mit Sicherheit noch keine wesentliche Rolle. Man kann also sagen, daß von dem 46,8 Gy - Anstieg der Serie 5 F/ 56 d gegenüber der Einzeitbestrahlung 28,8 Gy, das sind mehr als 60%, durch Regenerationsprozesse während der Behandlungszeit zustandekamen und an die 40% durch intrazelluläre Erholungsvorgänge (ELKIND-Erholung). Inwieweit dabei neben der Repopulierung von Epithelzellen auch Zellen des Gefäßbindegewebes (Endothelien, Fibrozyten) neugebildet wurden und so zum Anstieg der Toleranzdosis beitrugen, muß aus folgenden Gründen unbeantwortet bleiben. Durch überkompensatorische Proliferation von Endothelzellen, besonders nach mäßigen Strahlendosen zu beobachten, kann es zu Lumenverengungen und Verschlüssen kommen. Durch eine gesteigerte Fibroblastenaktivität erhöht sich der Faseranteil im Stroma, was einerseits die Erholung von Gefäßen und Parenchymzellen beeinträchtigt, andererseits die Funktion des Organs reduziert (RUBIN u. CASARETT, 1968).

Unter Redistribution wird die Neuverteilung von überlebenden Zellen nach einer Strahlendosis verstanden. Normalerweise sind die Mitglieder einer Zellpopulation auf die einzelnen Zellzyklusphasen mit unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit aufgeteilt. Von einer Strahlendosis werden in erster Linie die Zellen betroffen, die sich gerade in einer empfindlichen Phase (z.B. M oder G₂ - Phase) befinden. Durch diese Selektion kommt es bei den überlebenden Zellen zu einer gewissen Synchronisation, die aber im Laufe der Zeit wieder verloren geht. Diesen Prozeß der Wiederherstellung ursprünglicher Verhältnisse nennt man Redistribution. Dabei steigt zunächst die Überlebensrate an (am besten darzustellen an einem 2 Fraktionenexperiment, ELKIND 1967, WITHERS 1975), weil sich der synchronisierte Teil der überlebenden Zellen immer noch in der unempfindlichen Phase befindet. Innerhalb weniger Stunden aber fällt die Überlebensrate ab, wenn die synchronisierten Zellen in die empfindlichen Phasen des Zyklus'gelangen. Insgesamt resultiert aus dieser Desynchronisation und Rückverteilung eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit der Gesamtpopulation, die sich nur an ständig teilenden Geweben bemerkbar macht. (WITHERS, 1975). Da unser betrachtetes Ereignis, der Darmverschluss, auch durch die Reaktion des kaum proliferierenden Gefäßbindegewebes zustande kommt, muß dem Einfluß der Redistribution bei unseren Fraktionierungsexperimenten von vornherein eine eingeschränkte Bedeutung zugesprochen werden. Abgesehen davon ist der Distributionseffekt an einem in vivo-Experiment kaum quantifizierbar, weil es nicht möglich ist, die überlebenden Zellen zu identifizieren und ihre Altersverteilung festzustellen. Außerdem wird er durch Erholungsvorgänge (Reparatur des subletalen Strahlenschadens und Regeneration) sehr leicht verdeckt, besonders bei höherer Fraktionenanzahl und längeren Behandlungszeiten. (WITHERS, 1975). Aus diesen Gründen ist eine Abschätzung des Redistributionseinflusses bei unserer fraktionierten Darmbestrahlung nicht möglich.

Die Reoxygenierung von sauerstoffunterversorgten Zellen während einer fraktionierten Bestrahlung spielt nur bei Tumorgeweben eine wichtige Rolle. Wir stellten zwar, wie beschrieben, sechs Wochen nach hoher Einzeitbestrahlung eine reduzierte Kapillardichte innerhalb der Lamina propria fest, doch kann deswegen nicht von einer Unterversorgung der Epithel- oder anderer Zellen gesprochen werden, weil sich die Zellvermehrung eines Normalgewebes nach dem vorhandenen Kapillarbestand richtet. Es kommt also beim Normalgewebe nicht zu einer Unausgeglichenheit zwischen der Gefäßdichte und der Anzahl der zu versorgenden Zellen.

4.2.2. DIE PROBLEMATIK VON ISOEFFEKTURVEN UND DARAUS ABGELEITETEN FORMELN.

4.2.2.1. EINFÜHRUNG.

Seit nahezu vier Jahrzehnten wird in der Strahlenbiologie bzw. -therapie die Möglichkeit diskutiert, den Einfluß der Dosisfraktionierung und der Gesamtbehandlungszeit auf die Gesamtdosis für einen bestimmten Effekt an einem bestimmten Organ mittels einer mathematischen Formel zu beschreiben und zu quantifizieren. Der Sinn einer solchen Formel liegt darin, dem Strahlentherapeuten einen zuverlässigen Vergleich unterschiedlicher Bestrahlungsschemata zu erlauben, was besondere Bedeutung hat, wenn der beabsichtigte Fraktionierungsplan nicht eingehalten werden kann. Darüber hinaus soll der Vergleich von Klinik zu Klinik erleichtert werden.

STRANDQUIST (1944) entwickelte die erste von seither zahlreichen Formeln, als er die Zeit-Dosis-Effekt-Abhängigkeit von klinischen Daten über Heilung von Hautkarzinomen und Hautnekrosen untersuchte. Dabei fand er, daß der Logarithmus der optimalen Strahlendosis dem Logarithmus der Gesamtbehandlungszeit proportional ist. Diese Beziehung ist in einer

doppellogarithmischen Darstellungsweise durch Geraden gekennzeichnet, deren Neigung durch einen Exponenten zur Zeit T angegeben werden kann.

4.2.2.2. DAS NSD = KONZEPT.

Nachdem FOWLER u. Mitarb. (1963) durch Experimente an der Schweinehaut nachgewiesen hatten, daß dem Einfluß der Fraktionenanzahl, der bei der STRANDQUIST'schen Beziehung in die Größe T der Behandlungszeit mit eingegangen war, eine größere Bedeutung als der Zeit zukommt, führte ELLIS (1968) eine neue Formel ein. Sein sogenanntes NSD-Konzept trennte die Effekte von Fraktionenanzahl und Gesamtbehandlungszeit. An Hand klinischer Daten schlug er vor, die Toleranzdosis des Normalgewebes (D) mit der Gesamtbehandlungszeit (T) und der Fraktionenanzahl (N) auf folgende Weise in Beziehung zu setzen:

$$D = (\text{NSD}) \times N^{0,24} \times T^{0,11}$$

NSD, die sogenannte Nominal-Standard-Dosis, ist die Proportionalitätskonstante der Gleichung. Sie bekam die Einheit ret. Die Exponenten für N und T leitete ELLIS aus Daten über Hautreaktionen nach Bestrahlung ab. Da diese durch Schäden am Gefäßbindegewebe verursacht würden, und weil Bindegewebe in fast allen Organen vorhanden und überall gleich empfindlich sei, könnte, so die Schlußfolgerung von ELLIS, der Formel eine allgemeine Gültigkeit zugesprochen werden.

Das NSD-Konzept erlangte von allen in diesen Jahren entwickelten Formeln in der Klinik die breiteste Anwendung. Doch wurde der Anspruch auf Allgemeingültigkeit zunehmend in Zweifel gezogen, insbesondere von strahlenbiologischer Seite. Zu den wichtigsten Argumenten der Kritiker gehört:

1. Ein konstanter Wert für den Exponenten von N ist unangemessen. Sowohl bei einer kleinen als auch bei einer großen Anzahl von Fraktionen führt eine Kalkulation nach der ELLIS-Formel zu gefährlichen Überschätzungen der Gesamtdosis. (ANDREWS 1965, BATES 1975).
2. Ein konstanter Wert für den Exponenten von T ist ebenfalls unangemessen. Bei dem Wert 0,11 der ELLIS-Formel leistet eine kurze Behandlungszeit einen relativ größeren Beitrag zur Regeneration als eine längere Zeit. Dies wird von der Realität klar widerlegt. Bei den meisten Geweben setzt die Regeneration, der die Größe von T bedingende Erholungsprozeß, erst nach einer gewissen Zeitspanne ein. Ihre Rate kann im Lauf der Zeit zunehmen. Ein Beispiel dafür ist das bereits vorher erwähnte Experiment von WITHERS und MASON (1974) über die Regeneration der Colonmucosa.
3. Selbst in einem begrenzten Bereich der Fraktionenanzahl ist der Exponent für $N = 0,24$ längst nicht für alle Gewebe gültig. Experimentelle Ergebnisse lieferten Werte zwischen 0,2 und 0,5.
4. Die ELLIS-Formel wurde von Daten über akute Hautreaktionen abgeleitet. Klinische aber auch experimentelle Studien weisen darauf hin, daß der Anzahl der Fraktionen hinsichtlich Spätschäden eine größere Bedeutung zukommt als bei Frühreaktionen (BATES 1975, WITHERS 1975).

KISZEL (1983) überprüfte bereits in seiner Arbeit mit den ihm zur Verfügung stehenden Daten das NSD-Konzept. Der Vollständigkeit halber seien seine Untersuchungen anhand der neuen Daten ergänzt. Die Abb.4.2.2.2 -a zeigt die Abhängigkeit der Gesamtdosis (D) (es handelt sich um die LD - 50) von der Fraktionenanzahl N bei gleicher Behandlungszeit. Es wurden die Serien mit 28 Tagen Behandlungszeit ausgewählt: 2 F/28 d, 5 F/28 d, 9 F/28 d, 20 F/28 d. Die Regressionsgerade weist eine Neigung von 0,48 (Standardabweichung = 0,10) auf, folglich kommt N dieser Exponent zu. Bei KISZEL lag er einmal bei 0,24, ein anderes Mal bei 0,73.

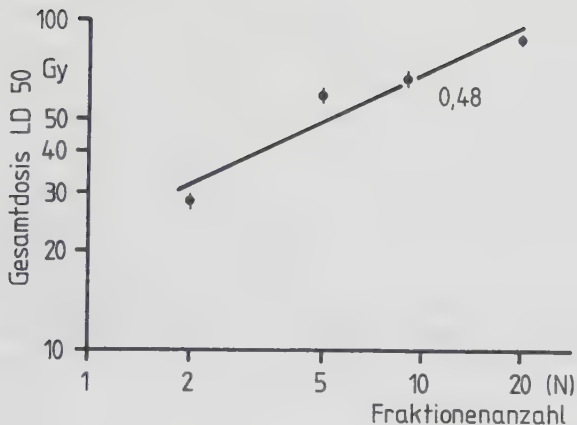


Abb. 4.2.2.2 -a: Doppellogarithmische Darstellung der Abhängigkeit der Gesamtdosis von der Anzahl der Fraktionen. LD - 50 Daten mit Angabe des 90% - Vertrauensbereichs. Neigung der Regressionsgeraden : 0,48.

Die Abb. 4.2.2.2 - b stellt die Abhängigkeit der Gesamtdosis (D) von der Gesamtbehandlungszeit (T) bei gleicher Anzahl von Fraktionen dar. Es wurden die Daten der Serien mit 5 Fraktionen verwendet: 5 F/4 d, 5 F/28 d, 5 F/56 d, 5 F/112 d. Die Regressionsgerade für die ersten drei Daten hat eine Neigung von 0,22, bei einer Standardabweichung von 0,02. Zwischen 5 F/56 d und 5 F/112 d besteht kein Anstieg mehr.

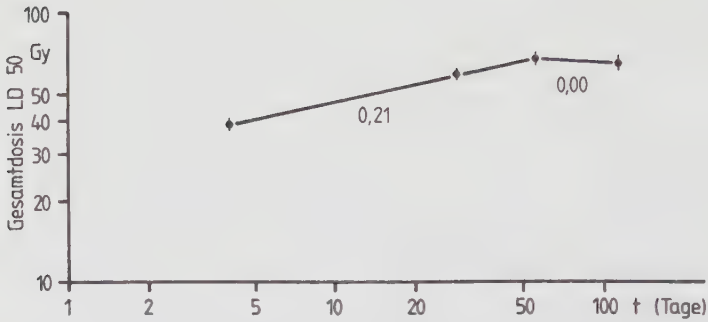


Abb. 4.2.2.2 -b: Doppellogarithmische Darstellung der Abhängigkeit der Gesamtdosis von der Gesamtbehandlungszeit. LD - 50 Daten mit Angabe des 90% - Vertrauensbereichs. Neigung der Regressionsgeraden : 0,21.

Diese Ergebnisse geben den Kritikern der MSD-Formel recht. Ein Exponent für N von 0,24 ist zumindest beim Enddarm der Ratte weit unterschätzt. Der experimentell gewonnene Exponent von 0,48 unterstreicht nachdrücklich die Bedeutung der Fraktionenanzahl bei diesem Organ. Der Einfluß der Gesamtbehandlungszeit würde mit dem Exponenten der Ellisformel = 0,11 ebenso unterschätzt werden. 0,22 für T weisen unmißverständlich auf die hohe regenerationsfähige Kapazität des Darms hin. Daß der Exponent für T unmöglich konstant sein kann, geht aus den Serien mit 5 Fraktionen hervor, wo eine Erhöhung der Gesamtbehandlungszeit von 56 Tagen auf 112 Tagen keine Zunahme der Toleranzdosis mehr bewirkt. Gegen die Konstanz des Exponenten für T hatten bereits die Ergebnisse von KISZEL bei seinen 2-Fraktionenexperimenten gesprochen, als der Exponent einmal 0,00 ein anderes Mal 0,09 betragen hatte.

4.2.2.3. DER LINEAR-QUADRATISCHE FORMALISMUS.

Auf Grund der genannten Unzulänglichkeiten des NSD-Konzepts wurde in den letzten Jahren intensiv nach alternativen Lösungen gesucht. DOUGLAS und FOWLER (1976) diskutierten Isoeffektbeziehungen von Mäusehautreaktionen anhand der linear-quadratischen Form der Überlebenskurve. In der linear-quadratischen Gleichung: SF (überlebende Fraktion) = $e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$ sind α und β Koeffizienten, wobei α die lineare, nicht reparable Komponente des Zelluntergangs repräsentiert und β die durch Wechselwirkung von 2 subletalen, aber reparablen Schäden wirksam werdende Komponente ausdrückt. DOUGLAS und FOWLER führten zur Beschreibung ihrer experimentellen Resultate das sogenannte F_e - Konzept ein. Sie zeigten, daß die Funktion $F_e = \frac{1}{n \cdot D}$ (n = Zahl der Fraktionen, D = Dosis/Fraktion, $n \cdot D$ = Gesamtdosis) der Neigung der Zellüberlebenskurve vom Anfang bis zur jeweiligen Dosis pro Fraktion proportional ist. Die Darstellung der Beziehung F_e , dem reziproken Wert der Gesamtdosis gegenüber der jeweiligen Dosis pro Fraktion, ergab einen linearen Anstieg. Während DOUGLAS und FOWLER zur Beschreibung der Fraktionierungseffekte eine genaue Kenntnis der Überlebenskurve der für das Gewebe (in ihrem Fall die Mäusehaut) kritischen Zellen hatten, entwickelte BARENDSEN (1982) einen allgemeineren Formalismus, der es erlaubte, auch bei Geweben mit unterschiedlichen Zelltypen, also ohne genaue Vorstellung der jeweiligen Überlebenskurve, Fraktionierungseffekte beschreiben und vorhersagen zu können. Er ging davon aus, daß eine Beschreibung dieser Effekte zumindest einen linearen und einen quadratischen Term beinhalten müsse. Seine Ausgangsformel lautet:

$$F(D) = \alpha D + \beta D^2 \quad (1)$$

$F(D)$ ist die Häufigkeit eines Effekts als Funktion der Dosis; α und β die Konstanten der linear-quadratischen Form

der Überlebenskurve. $F(D)$ sei im folgenden immer mit E (Effektlevel) bezeichnet. Weitere Voraussetzungen für diesen Formalismus sind:

1. Jede gleich hohe Fraktionsdosis ist gleich wirksam.
2. Die Proliferation von überlebenden Zellen ist zu vernachlässigen.
3. Für den Fall, daß der Schadens- oder Effektlevel nicht durch eine bekannte überlebende Zellfraktion gekennzeichnet werden kann, ist es möglich, einen bestimmten Wert ohne Rücksicht auf eine Überlebenskurve anzunehmen.

In der Gleichung (1) kann D als Gesamtdosis oder als Dosis pro Fraktion aufgefaßt werden. Als Gesamtdosis verstanden läßt sich Gleichung (1) auch so schreiben:

$$E = \alpha \cdot n \cdot d + \beta \cdot n \cdot d^2 \quad (1')$$

Dabei bedeutet n die Anzahl der Fraktionen und d die Dosis pro Fraktion. Die Gleichung (1') kann folgendermaßen umgeschrieben werden:

$$E = n \cdot d (\alpha + \beta d) \quad (2)$$

$$\frac{E}{n \cdot d} = \alpha + \beta d \quad (2')$$

BARENDSEN nennt die Formel (2') die Effektivität pro Einzeldosis. Dividiert man Gleichung (2') durch E erhält man den Ausdruck:

$$\frac{1}{n \cdot d} = \frac{\alpha}{E} + \frac{\beta}{E} \cdot d \quad (3)$$

Dies stellt eine Geradengleichung dar. Die Gerade erhält man auf einfache Weise, indem der reziproke Wert der Gesamtdosis ($\frac{1}{n \cdot d}$) gegenüber der Dosis/Fraktion aufgetragen wird. Die Werte von $\frac{\alpha}{E}$ und $\frac{\beta}{E}$ ergeben sich dabei so: Der Schnittpunkt dieser Geraden mit der Ordinate bei Dosis/Fraktion = 0 ist α proportional. α hat die Dimension Dosis⁻¹. Der Schnittpunkt ermittelt eine Toleranzdosis bei einer unbegrenzten Anzahl von verschwindend kleinen Fraktionen. BARENDSEN bezeichnet sie als

extrapolierte Toleranzdosis. Die Konstante β ist der Neigung der erhaltenen Gerade proportional. β hat die Dimension Dosis⁻². Die Gleichung (2') läßt sich auch so darstellen:

$$\frac{E}{n \cdot d} = \alpha \left(1 + d / \frac{\alpha}{\beta} \right) \quad (2'')$$

Durch diese Darstellung wird ersichtlich, daß das $\frac{\alpha}{\beta}$ -Verhältnis von wichtiger Bedeutung für die Beschreibung von Fraktionierungseffekten ist. $\frac{\alpha}{\beta}$ bestimmt den Anstieg der Strahleneffektivität mit steigender Dosis pro Fraktion. $\frac{\alpha}{\beta}$ hat die Dimension Dosis, im allgemeinen also die Einheit Gray. Es ist die Dosis, bei der die Effektivitäten der α - und β -Komponenten gleich groß sind.

Die Bestimmung der $\frac{\alpha}{\beta}$ -Beziehung bei der Analyse von Fraktionierungsexperimenten an zahlreichen Geweben ergab Werte von 0,8 Gy bis über 10 Gy (BARENDSEN). Diese beträchtliche Variation allein weist schon darauf hin, daß der Einfluß der Fraktionierung vom Gewebstyp abhängig ist. Es wurde festgestellt, daß das $\frac{\alpha}{\beta}$ -Verhältnis bei akut reagierenden Geweben höhere Werte (8 - 12 Gy) zeigt als bei spät reagierenden (0,8 - 5 Gy) (BARENDSEN 1982, FOWLER 1982).

Zur Ermittlung der Parameter des linearquadratischen Modells bei den Fraktionierungsexperimenten am Rattendarm wurden die reziproken Werte der LD-50 gegenüber der jeweiligen Dosis pro Fraktion aufgetragen. Wegen der Nichtberücksichtigung von Regenerationsvorgängen im linear-quadratischen Formalismus (dies wurde als eine der Voraussetzungen des Modells bereits erwähnt) verwendeten wir dazu nur Daten von Serien mit relativ kurzen Gesamtzeiten: SD (Einzeitbestrahlung), 2 F/1d, 3 F/7d, 5 F/4d. Der LD-50-Wert des 20-Fraktionen-Experiments wurde wegen der klinisch interessanten, niedrigen Dosis pro Fraktion mit aufgenommen, wobei allerdings der korrigierte, den geschätzten regenerationsrischen Anteil vernachlässigende Wert berücksichtigt wurde. Eine zusätzliche Schwierigkeit stellte die Miteinbeziehung der Einzeitbestrahlung dar. Die von der linear-quadratischen Formel beschriebene Dosis-effekt-

kurve hat einen sich ständig beugenden Verlauf. Dadurch wird sie im höheren Dosisbereich den tatsächlich experimentell ermittelten Verhältnissen nicht mehr gerecht. BARENDSEN behalf sich bei seinen Darstellungen damit, daß er den Einzeldosis-Punkten in einigen Fällen weniger Gewicht gab. Bei der Präsentation der experimentellen Daten dieser Arbeit wurde der Wert der Einzeitbestrahlung einmal berücksichtigt, ein anderes Mal ausgeklammert.

Die Abb. 4.2.2.3 - a demonstriert die spezifische Effektivität je Fraktionsdosis, abgeleitet aus dem reziproken Wert der Gesamtdosis (50% Darmverschlüsse) als Funktion von der Dosis / Fraktion. Den experimentellen LD - 50 Daten wurden Regressionsgeraden zugeordnet. Die Gerade mit Einbeziehung der Einzeitbestrahlung ist durch folgende Größen bestimmt: Dem Schnittpunkt $= \frac{\alpha}{E} = 1,47 (10^{-2} \text{ Gy}^{-1})$ entspricht eine extrapolierte Toleranzdosis von 68,0 Gy. Die Neigung $\frac{\beta}{E} = 0,18 (10^{-2} \text{ Gy}^{-2})$; $\frac{\alpha}{\beta}$ demnach $\frac{1,47}{0,18} = 8,2 \text{ Gy}$.

Die ohne den Wert der Einzeitbestrahlung berechnete Regressionsgerade ist steiler: Der Schnittpunkt $= \frac{\alpha}{E} = 1,16 (10^{-2} \text{ Gy}^{-1})$ liefert eine Toleranzdosis von 86,2 Gy, die Neigung $= \frac{\beta}{E} = 0,23 (10^{-2} \text{ Gy}^{-2})$; $\frac{\alpha}{\beta} = \frac{1,16}{0,23} = 5,0 \text{ Gy}$.

Der erste $\frac{\alpha}{\beta}$ Wert = 8,2 Gy bringt unser betrachtetes Ereignis, Darmverschluß, der Gruppe der Frühreaktionen nahe. Der zweite ohne Berücksichtigung der Einzeitbestrahlung gewonnene $\frac{\alpha}{\beta}$ - Wert = 5,0 weist eher auf eine späte Reaktion hin. BARENDSEN stellt fest, daß ein mittlerer $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert (5 Gy) den Reaktionen des Bindegewebes zugeordnet werden kann.

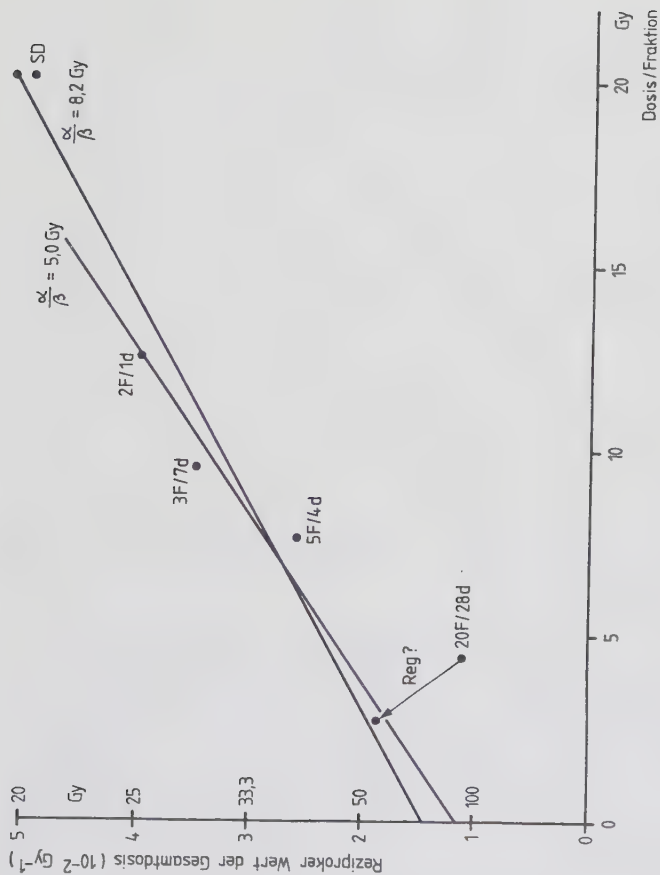


Abb. 4.2.2.3-a: Reziproker Wert der Gesamtdosis (LD-50) in Abhängigkeit von der Dosis pro Fraktion. Den regenerationsfreien Daten sind zwei Regressionsgeraden (einmal ohne, einmal mit Berücksichtigung der Einzelbestrahlung SD) zugeordnet.
Das α/β - Verhältnis anhand dieser Geraden: 5,0 bzw. 8,2 Gy.

Mit Hilfe eines ermittelten $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wertes für ein bestimmtes Gewebe und ein bestimmtes betrachtetes Ereignis lassen sich andere Fraktionierungsschemata berechnen:

Gleichung (2'') = $\frac{E}{n \cdot d} = \alpha (1 + d / \frac{\alpha}{\beta})$ kann folgendermaßen

vereinfacht werden: $\frac{E}{n \cdot d \cdot \alpha} = 1 + d / (\frac{\alpha}{\beta}) = RE \quad (4)$

BARENDSEN nennt diesen Ausdruck die relative Effektivität der Einzeldosis (RE), die im Fall der Einzeldosis = 0 den Wert 1 erhält und mit steigender Dosis gemäß der Rate $\frac{\alpha}{\beta}$ linear zunimmt. Gleichung (2) : $E = n \cdot d (\alpha + \beta d)$ kann auf die Weise umgeschrieben werden:

$$n \cdot d = (\frac{E}{\alpha}) / (1 + d / (\frac{\alpha}{\beta})) = (E/\alpha) / RE \quad (5)$$

Wenn bei einem Gewebe die Toleranzdosis ($n \cdot d$) für eine bestimmte Dosis pro Fraktion bekannt ist und auch der Wert $\frac{\alpha}{\beta}$ feststeht, kann die extrapolierte Toleranzdosis ($\frac{E}{\alpha}$) errechnet werden. Zunächst wird mit den bekannten Größen d und $\frac{\alpha}{\beta}$ RE bestimmt. Nach Einsetzen in die Gleichung (5) ergibt sich daraus $\frac{E}{\alpha}$. Eine neue Toleranzdosis ($n \cdot d'$) bei geänderter Dosis pro Fraktion (d') kann nun auf einfache Weise errechnet werden: Zunächst wird der neue RE'-Wert bestimmt ($RE' = 1 + d' / (\frac{\alpha}{\beta})$) und dann dieser Wert durch die inzwischen bekannte extrapolierte Toleranzdosis ($\frac{E}{\alpha}$) dividiert (Gleichung (5)).

Ein Zahlenbeispiel soll die Berechnung veranschaulichen: Die Serie 2 F/1 d hatte eine Toleranzdosis (LD - 50) von 25,0 Gy, wobei die Dosis pro Fraktion 12,5 Gy betrug.

Wenn nun ein anderes Fraktionierungsschema mit der Dosis pro Fraktion = 7,5 Gy angewendet werden soll, errechnet sich die neue Toleranzdosis in folgender Weise (als $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert wird 5,0 Gy angenommen):

$$RE = 1 + \frac{12,5 \text{ Gy}}{5,0 \text{ Gy}} = 3,5$$

$$\frac{E}{\alpha} (\text{Extrapol. Tol. Dosis}) = 25,0 \text{ Gy} \cdot 3,5 = 87,5 \text{ Gy}$$

$$RE' = 1 + \frac{7,5 \text{ Gy}}{5,0 \text{ Gy}} = 2,5$$

$$n \cdot d' = \frac{87,5 \text{ Gy}}{2,5} = 35,0 \text{ Gy}$$

Die neue, berechnete Toleranzdosis ($n \cdot d'$) = 35,0 Gy bei einer Einzeldosis von 7,5 Gy kommt dem experimentell ermittelten Wert der Serie 5 F/ 4d = 38,2 (Einzeldosis = 7,6 Gy) nahe. Bei dem anderen $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert = 8,2 Gy würde sich eine Toleranzdosis von 33,2 Gy ergeben. Für die niedrige Einzeldosis der 20 Fraktionen-Serie = 2,7 Gy bekäme man rechnerisch bei einem $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert von 5 Gy eine Toleranzdosis von 56,8 Gy. Der geschätzte Wert nach Abzug des regenerationsbedingten Anteils lag bei 54,0 Gy.

Ein wichtiger Vorzug des linear-quadratischen Formalismus ist, daß er die Dosis pro Fraktion in den Vordergrund stellt; ihr Einfluß wird durch den Parameter $\frac{\alpha}{\beta}$ charakterisiert. Ein hoher $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert, wie er bei früh reagierenden Geweben festgestellt wird, drückt aus, daß der α -Prozeß, die nicht reparable oder single-hit-Komponente, dominiert. Dabei hat die entsprechende Dosiseffektkurve einen relativ langen, exponentiellen Anfangsteil. Niedrige Fraktionsdosen führen in einem solchen Fall zu keiner Erhöhung der Toleranzdosis (THAMES, 1982). Dagegen betont bei spät reagierenden Geweben der niedrige $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wert die β -Komponente. Die dazu gehörige Dosis Effektkurve wird sehr bald kurvig, sodaß selbst eine weitere Verminderung auch kleiner Fraktionsdosen noch zu einem zusätzlichen Anstieg der Toleranzdosis führt (THAMES et al., 1982). Da beim linear-quadratischen Modell zur Berechnung von Toleranzdosen die Kenntnis des $\frac{\alpha}{\beta}$ -Wertes für das betreffende Gewebe Voraussetzung ist, muß dieser Methode als der fundamentaleren, weil auf strahlenbiologischen Einsichten basierend, der Vorzug gegenüber der ELLIS-Formel gegeben werden. Es waren klinische Resultate, die die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung der Dosis pro Fraktion bei der fraktionierten Strahlentherapie lenkten. Es zeigte sich, daß eine Erhöhung der Fraktionsdosis und damit Verminderung der Fraktionenanzahl die akuten Reaktionen (z.B. Hautrötung) nur wenig, hingegen die Spätreaktionen (Teleangiektasie) erheblich beeinflusste (u.a. BATES und PETERS, 1975, SINGH 1978). THAMES (1982)

demonstrierte dieses Phänomen anhand tierexperimenteller Daten. Er trug die Fraktionierungsergebnisse im doppellogarithmischen Maßstab auf, jedoch nicht in der Weise von STRANDQUIST (Gesamtdosis gegenüber Fraktionenanzahl), sondern stellte dem Anstieg der Gesamtdosis (Isoeffektdosis) die Abnahme der Dosis pro Fraktion gegenüber. Die Abb.4.2.2.3-b präsentiert diese Darstellungsweise.

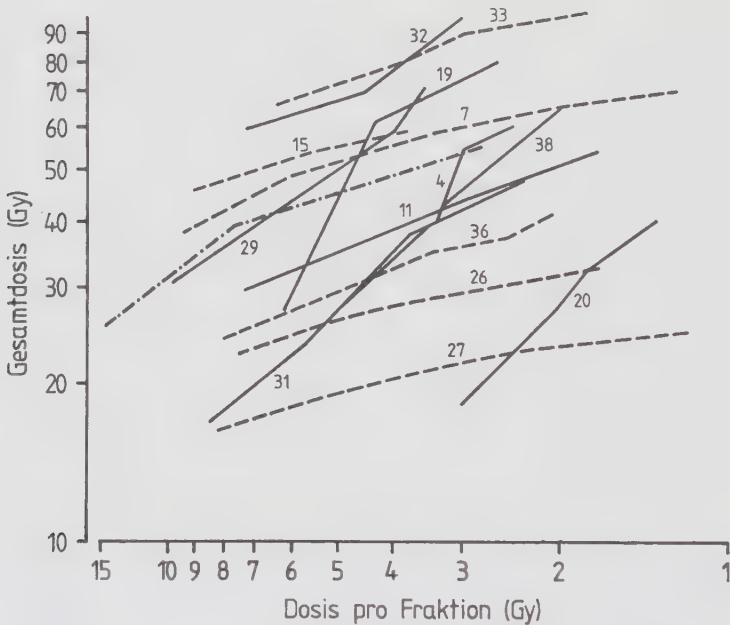


Abb.4.2.2.3 -b: Gesamtdosis gegenüber abnehmender Dosis pro Fraktion in doppellogarithmischer Darstellung mit Isoeffekt-kurven für späte (durchgehende Linien) und frühe (gestrichelte Linien) Ereignisse an verschiedenen Normalgeweben (THAMES, et al.,1982). Der strichgepunkteten Isoeffektkurve liegen die Fraktionierungsergebnisse der Darmbestrahlung zu Grunde.

Die Isoeffektkurven der spät reagierenden Gewebe (durchgehende Linie) weisen alle einen steileren Anstieg auf als die der früh reagierenden (gestrichelte Linie). Spätreaktionen werden demnach von Änderungen der Dosis pro Fraktion stärker beeinflusst. Anders ausgedrückt, die Toleranz eines spät reagierenden Gewebes kann selbst bei geringer Reduzierung der Fraktionsdosis noch deutlich gesteigert werden. In die Abbildung wurden die Fraktionierungsergebnisse dieser Arbeit mitaufgenommen, wobei nur Serien mit regenerationsfreien Daten (2 F/1 d, 5 F/4 d und 20F/28 d (korrigiert!) Verwendung fanden. Die erhaltene Isoeffektkurve (strichgepunktete Linie) für das Rattencolon mit dem betrachteten Ereignis Darmverschluß ist zunächst deutlich steiler als die Isoeffektkurven der früh reagierenden Gewebe.

Jüngste experimentelle Ergebnisse zeigen, daß auch dem linear-quadratischen Modell keine unbeschränkte Gültigkeit zugesprochen werden kann. So ermittelten FOWLER und PARKINS (1983) bei ihren Fraktionierungsexperimenten an der Mäuselunge für die Strahlenpneumonitis, ein akutes Ereignis, relativ niedrige $\frac{\alpha}{\beta}$ -Werte (3,0 - 4,4). Bei der Blase, einem spät reagierenden Organ, traten erstaunlich hohe $\frac{\alpha}{\beta}$ -Werte auf (4,1 - 8,9 Gy) (STEWART et al. 1983). Für einen eher vorsichtigen Umgang mit diesem Konzept sprechen auch die Ergebnisse der Fraktionierungsexperimente dieser Arbeit. Den Daten konnte, wie beschrieben, nicht ohne weiteres eine gültige Gerade zugeordnet werden. Neben den beiden in der Abb. 4.2.2.3 -a dargestellten Geraden wären auch noch andere Zuordnungen bei Hinzuziehung der übrigen Serien denkbar gewesen. Abgesehen davon ist nochmals darauf hinzuweisen, daß das Ergebnis der Serie 20 F/28 d, welches von beiden Geraden berücksichtigt wird, nur ein geschätzter Wert ist. Die beiden erhaltenen $\frac{\alpha}{\beta}$ -Werte von 5,0 bzw. 8,2 Gy weisen den Darmverschluß nicht unbedingt als ein spätes Ereignis aus, was es aber zweifelsohne ist, zieht man die allgemein geltenden Kriterien für Spätschäden (symptomfreies Intervall, Gefäßbindegewebsschaden) in Betracht.

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung von fraktionierter, externer Bestrahlung auf die Spätreaktionen des Dickdarms wurden, abgesehen von unserer Arbeitsgruppe, nur von TERRY et al. (1983) in größerem Umfang durchgeführt. TERRY bestrahlte ein 22 mm langes Segment des Mäuseenddarms, das neben einem Teil des Colon descendens das gesamte Rectum einschließlich Anus umfaßte. Den Untersuchungen lagen verschiedene Endpunkte zugrunde. Dabei handelte es sich um Gewichtsveränderungen innerhalb von zwei Wochen, einem frühen Endpunkt, ferner um die Letalität zwischen 1 und 11 Monaten und schließlich um die Verformung der Kotballen 6 Monate nach Bestrahlung. Von den letztgenannten Endpunkten, beides späte Ereignisse, wurden die Fraktionierungsdaten der 50% - Letalität 6 Monate nach Bestrahlung zum Vergleich mit den Ergebnissen dieser Arbeit herangezogen. Danach betrug die 50% - Letalitätsdosis bei der Einzeitbestrahlung 26,0 Gy, bei der Serie 2 F/1 d: 37,0 Gy, bei der Serie 5 F/4 d: 50,0 Gy und bei der Serie 10 F/4 d: 56,0 Gy. Korrigiert man diese Daten nach dem LD - 50 Ergebnis unserer Einzeitbestrahlung, erhält man folgende Werte:

	Eigene Daten	TERRY (1983) (korrigiert auf LD 50 = 20 Gy)
SD	20,2 Gy	20,0 Gy
2 F/1 d	25,0 Gy	28,7 Gy
5 F/4 d	38,2 Gy	38,8 Gy
10 F/4 d	--	43,5 Gy

Trotz allem Vorbehalt gegenüber einem solchen Vergleich (unterschiedliches Tiermaterial, verschiedene Methode, anderer Endpunkt (Letalität statt Darmverschluß)) kann man sagen, daß der Enddarm der Maus auf fraktionierte Bestrahlung in ähnlicher Weise reagiert wie das Colon der Ratte, wenn man ein spätes Ereignis betrachtet.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Therapie-
maßnahmen und Dosisfraktionierung auf den chronischen Strah-
lenschaden am Enddarm der Ratte untersucht. Ein definierter
ca. 24 mm langer Darmabschnitt (Übergang des Colon descendens
in das Rectum) wurde extern röntgenbestrahlt. Der mehrere
Wochen bis Monate nach Bestrahlung auftretende letale Darm-
verschluß diente als Endpunkt.

Keines der in verschiedener Weise nach der Bestrahlung ein-
gesetzten Medikamente (Neomycin, Azulfidine^R, Betnesol^R-
Rektalinstitution, unspezifische "Heilsalbe" und Actihaemyl^R)
konnte die Entstehung schwerer Ulzerationen verhindern und
so die dosisentsprechende Darmverschlußquote senken.

Die Ernährung mit einer ballaststofffreien, flüssigen For-
maldiät an Stelle des normalerweise verabreichten pelletier-
ten Trockenfutters führte dazu, daß für die Dauer der Diät-
gabe (bis zu 20 Wochen nach Bestrahlung) in der Regel keine
Darmverschlüsse auftraten. Dies war auch dann der Fall,
wenn der Diätbeginn nicht im Anschluß an die Bestrahlung,
sondern zu späteren Zeitpunkten (ab der 4. Woche, bei Ein-
setzen der Ileussympptome) erfolgte. Nach Absetzen der Diät
und Umstellung auf Normalfutter entwickelten sich bei allen
Gruppen die typischen Ulzerationen mit der letalen Folge
(Ileus). Je länger die Zeitspanne zwischen Bestrahlung und
Diätende war, desto rascher kam es zur Zerstörung der Darm-
wand. Die histologischen Untersuchungen zeigten, daß das im
Bestrahlungsfeld gelegene Darmepithel während der Diät stark
atrophisch aber erosionsfrei ist, aber nach Umstellung auf
Normalfutter innerhalb einer Woche Defekte mit beginnenden
Entzündungsprozessen aufweist. Im bestrahlten Darmabschnitt
wurde innerhalb der Lamina propria eine deutliche Reduzierung

der Kapillardichte bei gleichzeitiger Faservermehrung festgestellt. Auf diese Veränderungen wurde die unzureichende Epithelregeneration zurückgeführt, die zur Folge hat, daß die Mucosa die höhere mechanische Belastung bei Normalfütter nicht zu tolerieren vermag.

Die Ergebnisse der Fraktionierungsexperimente drücken eine beachtliche regenerationskapazität des Enddarms aus, wobei die Anzahl der Fraktionen und damit die Höhe der Dosis pro Fraktion von wesentlicher Bedeutung sind, aber auch der Einfluß von Intervalllänge und Gesamtbehandlungszeit nicht übersehen werden darf. Die Gesamtdosis (LD - 50) steigt gegenüber der Einzeitbestrahlung bei 2 Fraktionen um 4,8 Gy, bei 5 Fraktionen um 18,0 Gy und bei 20 Fraktionen um 67,6 Gy (bei tägl. Intervall). Für den letztgenannten auffallend großen Anstieg wurde neben der Erholung vom subletalen Strahlenschaden (Elkind-repair) die Regeneration des Epithels verantwortlich gemacht, deren Einfluß sich am deutlichsten zwischen 1 und 4 Wochen Gesamtbehandlungszeit bemerkbar macht. Bei längeren Behandlungszeiten nimmt dieser Einfluß relativ rasch ab.

Mit den Daten der Fraktionierungsexperimente wurden zwei verbreitete mathematische Modelle zur Quantifizierung von Fraktionierungseffekten überprüft. Die Anwendung des NSD-Modells bestätigte die in den letzten Jahren laut gewordenen Zweifel an diesem Konzept. Unsere Ergebnisse sprechen der Fraktionenanzahl eine weitaus größere Bedeutung zu als es das Modell voraussagt. Außerdem zeigen sie, daß der Einfluß der Gesamtbehandlungszeit T nicht mit einem festen Exponenten für T beschrieben werden kann. Bei der Ermittlung der Parameter des linear-quadratischen Modells wurde die genaue Festlegung der Werte durch die fragliche Miteinbeziehung der Einzeitbestrahlung sowie die Berücksichtigung eines geschätzten Wertes (vom Ergebnis der 20-Fraktionenserie wurde ein geschätzter regenerationsbedingter Anteil abgezogen)

erschwert. Die beiden erhaltenen $\frac{\alpha}{\beta}$ - Werte von 5,0 bzw. 8,2 Gy sind für ein spätes Ereignis, wie es der ulcusbedingte Darmverschluss darstellt, eher untypisch.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Ergebnisse der Experimente über den Einfluß von prophylaktischen und therapeutischen Maßnahmen auf chronische Strahlenfolgen am Enddarm belegen nachdrücklich, wie hartnäckig sich Spätschäden meistens einem kurativen Zugriff entziehen. In den Diätversuchen kommt die wichtige Rolle von Sekundärfaktoren (in diesem Fall die mechanische Belastung des bestrahlten Darms) als auslösendes und forcierendes Moment bei der Schadensentwicklung zum Ausdruck.

Die aus den Ergebnissen der Fraktionierungsexperimente ersichtliche komplexe gegenseitige Abhängigkeit von Dosishöhe und Zeit hinsichtlich des Auftretens von Spätschäden ist mitverantwortlich dafür, daß die überprüften mathematischen Modelle zur Beschreibung von Fraktionierungseffekten unzulänglich erschienen. Die Ursache dieser Komplexizität liegt offensichtlich darin, daß dem manifesten Strahlenspätschaden am Enddarm das Zusammenwirken unterschiedlicher pathologischer Veränderungen in den einzelnen Geweben des Darms zu Grunde liegt. Wegen der bleibenden Veränderungen des Gefäß-Bindegewebes, die eine Wiederherstellung der normalen Epithelstruktur verhindern, können selbst günstige Regenerations- und Reparaturbedingungen bei Schonkosternährung oder Intervallausdehnung die Toleranz des Darms gegenüber späteren Einwirkungen nur in beschränktem Umfang steigern. Die klinische Praxis muß sich dieser Problematik bewußt sein. Eine Senkung der intestinalen Komplikationsrate nach einer Strahlentherapie im Bauch- und Beckenbereich ist nur bei bestmöglicher Dosisfraktionierung (Vermeidung hoher Fraktionsdosen) und weitgehender Reduzierung von sekundär schädigenden Faktoren möglich.

CHRONIC RADIATION DAMAGE TO THE LARGE BOWELS OF RATS: RESPONSE TO MEDICAL AND DIETARY TREATMENT AND DOSE-FRAC- TIONATION.

SUMMARY

The influence of medical and dietary treatment and dose-fractionation on the chronic radiation damage to the large bowels of rats was studied. A defined 24 mm segment of the colon descendens of female Wistar rats was irradiated with X - rays. Fatal ileus occurring weeks to months after irradiation was the criterium of chronic radiation damage.

The administration of Neomycin, Azulfidine^R, Betamethason (corticosteroid), nonspecific ointment and Actihaemyl^R after irradiation could not prevent the development of severe ulcerations. Therefore the dose dependent ileus-rate did not change.

The dietary influence was studied with a bulk-free synthetic diet as an alternative to normal pellet food. As long as the diet lasted (until 20 weeks) no animal developed obstruction. This held true even when the beginning of diet was not immediately after irradiation, but 3 weeks later or after the onset of ileus symptoms. After adaption to normal food all animals developed the typical ulcerations resulting in ileus. The longer time between irradiation and the end of diet lasted, the faster fatal ileus occurred. The histological studies yielded, that while on diet the mucosa was atrophic, but without erosions. Within 1 week after adaption to normal food the epithelial lining was partially interrupted with beginning inflammatory reactions at the unprotected spots. A significant reduction of capillary density and fibrosis was observed within the lamina propria of the irradiated colon. These pathologic changes

are supposed to be responsible for insufficient regeneration of the epithelium. This way the mucosa could not sustain the mechanical stress of pellet nutrition.

The results of the fractionation experiments show a considerable repair capacity of the large bowels. The number of fractions is of special importance, although the influence of the duration of the interval and the total treatment time should not be neglected.

The total dose (LD-50) is increased with 2 fractions by 4,8 Gy, with 5 fractions by 18,0 Gy and with 20 fractions by 67,6 Gy (given in daily fractions). The impressive increase at 20 fractions was referred to regeneration of epithelium cells as well as to the repair of sublethal damage. The influence of regeneration was shown to be at its peak between 1 and 4 weeks total treatment time, decreasing rapidly at longer intervals.

With the data of the fractionation experiments, two currently used mathematic models of the fractionation effect were checked.

The review of the NSD-model supported growing doubts about the universal validity of this concept. Our results assign much bigger importance to the number of fractions than predicted by the model. Besides this they emphasize, that the influence of the total treatment time T cannot be described by a fixed exponent for T .

With regard to the linear-quadratic model, an exact calculation of the values was impaired by the problem of how to handle the single dose results and repopulation in 20-fractions series.

The estimated $\frac{\alpha}{\beta}$ - ratios of 5,0 and 8,2 Gy respectively are not typical for late radiation effects.

CONCLUSIONS

The results of the experiments about the possibility of medical and dietary influence on the chronic radiation damage confirm the obstinacy, with which late radiation damage generally withdraws from medical interference. The studies about the dietary influence express the importance of secondary factors (esp. the mechanic stress on the irradiated gut) as an initiating and promoting momentum in the development of damage. The complex interdependence of fraction size and time, as seen in the results of the fractionation experiments, is probably partly responsible for the observation that the analysed mathematic models seemed inadequate. The reason for this complexity may be, that the manifest late damage is the result of different pathologic changes in the separate layers of the gut. Because of the residual damage in the stroma, which prevents restitution of the normal structure of the epithelium, even promising conditions of regeneration and repair (nutrition with bulk-free diet or prolongation of the interval) can increase tolerance of the intestine against later injuries only in a restricted range.

The clinician has to be conscious of this facts. A decrease of the intestinal complication rate after radio-therapy in the abdominal and pelvic region can be obtained only by more appropriate dose fractionation (i.e. avoiding high doses per fraction) and reduction of secondary injuring factors.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABBE, R.L., E. LEBEL and G. PINSONNEAULT:
Effects of prednisolone in the treatment of superficial
radiation lesion of the skin and mucosae.
J. Canad. Ass. Radiol. 9, 49-54 (1958)
2. ANDREWS, J.R.:
Dose - time relationships in cancer radiotherapy:
a clinical radiobiology study of extremes of dose and
time.
Am. J. Roentgenol. 93, 56-74 (1965)
3. ARENZ, F. und W. OEHLERT:
Die Regeneration der Dickdarmschleimhaut der Ratte nach
Lokal- und Ganzkörperbestrahlung.
Strahlentherapie 138, 365-374 (1969)
4. BACON, H.E.:
Radiation proctitis.
Radiology 29, 574 (1937)
5. BAER, U., K.-J. BAUKNECHT, R. SOUCHON und C. VIEBAHN:
Strahlenspätchaden am Darm.
Münchn. med. Wschr. 13, 503-507 (1981)
6. BARENDSEN, G.W.:
Dose fractionation, dose rate and iso-effect relation-
ships for normal tissue responses.
Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 1981-1997 (1982)

7. BATES, T.D. and L.J. PETERS:
Dangers of the clinical use of the NSD formula for small fraction-numbers.
Br. J. Radiol. 48, 773 (1975)
8. BESSERER, G.:
Über eine neue Behandlung von Strahlenfrühreaktionen an Blase und Darm.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 5, 405-410 (1956)
9. BLACK, W.C., L.S. GOMEZ, J.M. YUHAS and M.M. KLIGERMAN:
Quantitation of the late effects of X-irradiation on the large intestine.
Cancer 45, 444-451 (1980)
10. BOUNOUS, G., E. LE BEL, J. SHUSTER, P. GOLD, W.T. TAHAN and E. BASTIN:
Dietary protection during radiation therapy.
Strahlentherapie 149, 476-483 (1975)
11. BOUNOUS, G., W. TAHAN, J. SHUSTER, P. GOLD, L. COUSINEAU, M. ROCHON and E. LEBEL:
The use of an elemental diet during abdominal radiation.
Clin. Res. 21, 1066 (1973)
12. CHANDLER SMITH, J.:
The effect on mortality of surgical isolation of segmentally irradiated small intestine.
Radiat. Res. 12, 473 (1960)
13. DIRKSEN, P.K., N.M. MATOLO and J.D. TRELFORD:
Complications following operation in the previously irradiated abdominopelvic cavity.
Amer. Surg. 178, 234-241 (1977)

14. DOUGLAS, B.G. and J.F. FOWLER:
The effect of multiple small doses of X-rays on skin-reactions in the mouse and a basic interpretation.
Radiat. Res. 66, 401-426 (1976)
15. ELKIND, M.M. and H. SUTTON:
Radiation response of mammalian cells grown in culture.
I. Repair of X-ray damage in surviving Chinese hamster cells.
Radiat. Res. 13, 556-593 (1960)
16. ELKIND, M.M.:
Sublethal X-ray damage and its repair in mammalian cells.
In: Radiation Research (Ed.: G. Silini), North-Holland Publ., Amsterdam (1967)
17. ELLIS, F.:
The relationship of biological effect to dose-time fractionation factors in radiation therapy.
Curr. Top. Radiat. Res. 4, 359-397 (1968)
18. FOWLER, J.F., R.L. MORGAN, J.A. SILVESTER, D.K. BEWLEY and B.A. TURNER:
Experiments with fractionated X-ray treatment of the skin of pigs:
Br. J. Radiol. 36, 188-196 (1963)
19. FOWLER, J.F.:
The estimation of total dose for different numbers of fractions in radiotherapy.
Br. J. Radiol. 38, 365-368 (1965)
20. FOWLER, J.F., J. DENEKAMP, E.L. ALPEN and J.P. SLUBBART:
Summary of fractionation parameters obtained for mouse normal tissues.
Gray Laboratory, Annual Report (1982)

21. FOWLER, J.F. and C.S. PARKINS:
Late and acute damage in lung after multifractionation
X-irradiation.
Gray Laboratory, Annual Report (1983)

22. FRIEDMAN, N.B.:
Pathogenesis of intestinal ulcers following irradiation,
effects of colostomy and adhesions.
Arch. Path. 59, 2-4 (1955)

23. GERACI, J.P., K.L. JACKSON, G.M. CHRISTENSEN, R.G. PARKER, M.S. FOX and P.D. THROWER:
The relative biological effectiveness of cyclotron fast
neutrons for early and late damage to the small intestine of the mouse.
Europ. J. Cancer 10, 99-102 (1974)

24. GRAF, J.:
Kombinierte Wirkung von ionisierender Strahlung und
Actinomycin D auf den Enddarm der Ratte.
Diss. med., München (1983)

25. HAUER JENSEN, M., T. SAUER, F. DEVIK and K. NYGAARD:
Late changes following single dose Roentgen irradiation
of rat small intestine.
Acta Radiol. Oncol. 644, 1-5 (1983)

26. HIATT, N. and N.E. WARNER:
Influence of intestinal content on radiation lesions
of the small intestine.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 124, 937-939 (1967)

27. HUBMANN, F.H.:
Effect of X-irradiation on the rectum of the rat.
Brit. J. Radiol. 54, 250-254 (1981)

28. KAPLAN, E.L. and P. MEIER:
Nonparametric estimation from incomplete observations.
J. Amer. Stat. Ass. 53, 457-481 (1958)
29. KISZEL, Z.:
Die chronische Wirkung ionisierender Strahlung auf den
Enddarm der Ratte.
Diss. med., München (1983)
30. LENNER, V.:
Therapie von Strahlenfrüh- und spätschäden des Darmes.
Dtsch. med. Wschr. 105, 912-914 (1980)
31. MELBY, E.C. and N.H. ALTMAN:
Handbook of Laboratory Animal Science, Vol.I u.II
C.R.C. Press, Cleveland, Ohio (1974)
32. MORGENSTERN, L., R. THOMPSON and N.B. FRIEDMAN:
The modern enigma of radiation enteropathy:
sequelae and solutions.
Am. J. Surg. 134, 166-172 (1977)
33. NEUMEISTER, K.:
Die Strahlenreaktionen des Gastrointestinaltraktes.
Thieme-Verlag, Leipzig (1972)
34. PAGEAU, R. and G. BOUNOUS:
Systemic protection against radiation. Increased radio-
resistance in rats fed a formula-defined diet.
Radiat. Res. 71, 622-627 (1977)
35. PAGEAU, R. and C. ST-PIERRE:
Dietary enhancement of intestinal resistance during
fractionated irradiation.
Radiology 129, 205-207 (1978)

36. PORTER, E.H.:
The statistics of dose/cure relationships for irradiated tumors.
Brit. J. Radiol. 53, 210-227 (1980)
37. ROSOFF, C.B.:
The role of intestinal bacteria in the recovery from whole body irradiation.
J. Exptl. Med. 118, 935-943 (1963)
38. ROSWITT, B., S.J. MALSKY and C.B. REID:
Radiation tolerance of the gastrointestinal tract.
Front. Radiat. Ther. Onc. 6, 160-181 (1972)
39. RUBIN, P. and G.W. CASARETT:
Clinical Radiation Pathology, Vol. 1 u. 2
Saunders: Philadelphia, London, Toronto (1968)
40. RUBIN, P. and G.W. CASARETT:
A direction for clinical radiation pathology.
Front. Radiat. Ther. Onc. 6, 11-13 (1972)
41. SINGH, K.:
Two regimes with the same TDF but differing morbidity used in the treatment of stage III carcinoma of the cervix.
Br. J. Radiol. 51, 357-362 (1978)
42. SPRATT, J.S., P. HEINBECKER and S.L. SALTZSTEIN:
The influence of succinylsulfathiazole (sulfasuxidine) upon the response of canine small intestine to irradiation.
Cancer 14, 862-874 (1961)

43. STEWART, F.A., J. DENEKAMP and M.V. WILLIAMS:
Repair and repopulation during irradiation of mouse
kidney and bladder.
Brit. J. Radiol. in press, (1983)
44. STRANDQUIST, M.:
Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrah-
len bei Fraktionierung.
Acta Radiol. (Suppl.) 55, 1-300 (1944)
45. TERRY, N.H.A. and J. DENEKAMP:
RBE Values and repair characteristics for colo-rectal
injury after Cs¹³⁷ γ -rays and neutron irradiation.
2. Fractionation up to 10 doses.
Accepted by Brit. J. Radiol. (1983)
46. THAMES, H.D., H.R. WITHERS, L.J. PETERS and
G.H. FLETCHER:
Changes in early and late radiation responses with
altered dose fractionation: implications for dose
dose-survival relationships.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8, 219-226 (1982)
47. TISON, P.M.:
Stenosis rectales et peri-rectales après traitement
par les agents physiques du cancer du col uterin.
Gaz. Med. de Paris (suppl.) 15, 260 (1934)
48. TODD, T.F.:
Rectal ulceration following irradiation treatment of
carcinoma of cervix uteri.
Surg. Gynec. & Obst. 67, 617-631 (1938)

49. TROTT, K.R.:
Experimental results and clinical implications of the
4 R's in fractionated radiotherapy.
Radiat. Environm. Biophysics 20, 159-170 (1982)
50. WEBSTER, J.B.:
The effect of oral Neomycin therapy following whole-
body X-irradiation of rats.
Radiat. Res. 32, 117-124 (1967)
51. WITHERS, H.R. and M.M. ELKIND:
Radiosensitivity and fractionation response of crypt
cells of mouse jejunum.
Radiat. Res. 38, 598-613 (1968)
52. WITHERS, H.R. and M.M. ELKIND:
Microcolony survival assay for cells of mouse intesti-
nal mucosa exposed to radiation.
Int. J. Radiat. Biol. 17, 261-267 (1970)
53. WITHERS, H.R. and K.A. MASON:
The kinetics recovery in irradiated colonic mucosa of
the mouse.
Cancer 34, 896-904 (1974)
54. WITHERS, H.R.:
The 4 R's of Radiotherapy.
In: Advances in Radiation Biology.
Academic Press, New York, Vol. 5, 241-270 (1975)
55. WOLFRAM, S.:
Erfahrungen mit Solcoseryl (Actihaemyl) bei chronischen
und akuten Hautulcera.
Österr. Mh. ärztl. Fortbild. 4, 8-12 (1963)

56. ZOLLINGER, H.U.:

Radio-Histologie and Radio-Histopathologie.

In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. X/1
Springer-Verlag (1960)

Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott danke ich für die Überlassung des Themas und die stets gewährte, wertvolle Beratung.

Bei Herrn Prof. Dr. K. Tempel möchte ich mich für die kritische Durchsicht der Arbeit bedanken.

Den Mitarbeitern des Strahlenbiologischen Instituts der Universität München und der Abteilung Strahlenbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg, möchte ich für die freundliche Unterstützung danken.

Mein besonderer Dank gilt Frau C. Faltermayr, deren hervorragende Assistenz die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht hat.

L E B E N S L A U F

Andreas Spiethoff	geb. am 12. Dezember 1953 in München
Eltern	Dr. Bodo Spiethoff, Bankdirektor Irmgard Spiethoff, geb. Gollinger
Schulbildung	Grundschule, Gebeleschule, München September 1960 - Juli 1964 Wilhelmsgymnasium, München September 1964 - Juni 1973 Abschluß: Reifeprüfung
Wehrdienst	in Bad Reichenhall Juli 1973 - September 1974
Hochschule	Studium der Tiermedizin an der Universität München November 1975 - Juli 1980 Staatsexamen im Oktober 1980 Approbation als Tierarzt am 12. Februar 1981
Berufstätigkeit	Wissenschaftliche Hilfskraft am Strahlenbiologischen Institut der Universität München 1. April 1981 - 30. Juni 1983

